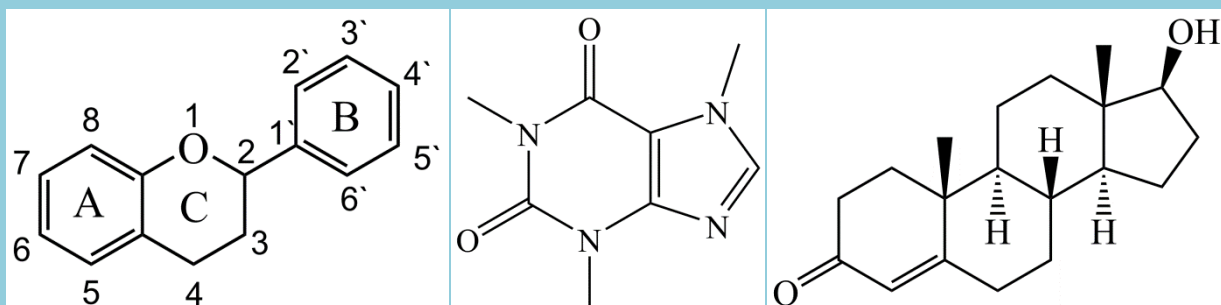


Д.С. Сальников, Е.В. Кудрик, С.В. Макаров

Химия биологически активных веществ

Учебное пособие



Иваново 2019

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Ивановский государственный химико-технологический университет

Д.С. Сальников, Е.В. Кудрик, С.В. Макаров

Химия биологически активных веществ

Учебное пособие

Иваново 2019

Сальников Д. С.

Химия биологически активных веществ: учебное пособие / Д. С. Сальников, Е. В. Кудрик, С. В. Макаров. Иван. гос. хим.-технол. ун-т. – Иваново, 2019. – 92 с.

Учебное пособие является руководством к проведению теоретических и лабораторных занятий по дисциплине «Химия биологически активных веществ» в рамках направления подготовки бакалавров 19.03.01 «Биотехнология». В издании приведены примеры получения и исследования свойств природных и синтетических биологически активных веществ.

Табл. 5. Рис. 49. Библиогр. 10 назв.

Печатается по решению редакционно-издательского совета Ивановского государственного химико-технологического университета.

Рецензенты:

доктор химических наук, профессор Д.Б. Березин
(Ивановский государственный химико-технологический университет);

кафедра технологии и товароведения пищевой продукции
Новосибирского государственного аграрного университета

© Сальников Д.С., Кудрик Е. В, Макаров С.В. 2019

© ФГБОУ ВО «Ивановский государственный
химико-технологический университет», 2019

Оглавление

Введение.....	5
Основные правила безопасности при работе в лаборатории.....	6
Структура, содержание и оформление лабораторных работ.....	6
Природные биологически активные вещества и их производные.....	7
1. Алкалоиды.....	7
Лабораторная работа 1.1. Качественное определение алкалоидов.....	16
Лабораторная работа 1.2. Выделение никотина из растительного сырья.....	18
2. Хлорофиллы.....	21
Лабораторная работа 2.1. Выделение хлорофилла из спирулины.....	22
3. Терпены.....	26
Лабораторная работа 3.1. Качественное определение холестерина в пищевых продуктах.....	34
Лабораторная работа 3.2. Получение бетулина из березовой коры.....	36
4. Витамины.....	37
Лабораторная работа 4.1. Определение содержания витамина В ₁₂ в лекарственных препаратах.....	37
5. Флавоноиды.....	41
Лабораторная работа 5.1. Выделение флавоноидов из апельсина.....	47
6. Углеводы.....	53
Лабораторная работа 6.1. Получение лактозы из молока.....	56
7. Белки.....	58
Лабораторная работа 7.1. Ксантопротеиновая (Мульдера) реакция на присутствие в белках ароматических аминокислот и тирозина.....	60
Лабораторная работа 7.2. Обнаружение остатков фосфорной кислоты в белках.....	62
8. Антибиотики.....	65
Лабораторная работа 8.1. Качественное определение антибиотиков.....	68
Синтетические биологически активные вещества.....	72
9. Бензойная кислота.....	73
Лабораторная работа 9.1. Получение бензойной кислоты.....	73
10. Гидразид малеиновой кислоты.....	75
Лабораторная работа 10.1. Получение гидразида малеиновой кислоты.....	75
11. Искусственные подсластители. Аспартам.....	77
Лабораторная работа 11.1. Спектрофотометрическое определение аспартама в пищевых продуктах.....	77
12. Гексаметилентетрамин.....	80
Лабораторная работа 12.1. Получение гексаметилентетрамина.....	80

13. Амид аллофановой кислоты.....	82
Лабораторная работа 13.1. Получение амида аллофановой кислоты.....	82
14. Йодоформ.....	85
Лабораторная работа 14.1. Синтез йодоформа	85
15. Хиноны.....	87
Лабораторная работа 15.1. Получение хинона из гидрохинона.....	88
Библиографический список.....	91

Введение

Интерес к биологически активным веществам обусловлен их широким применением в различных отраслях промышленности и науки, таких, как фармакология, медицина, пищевая промышленность, косметика и другие.

В литературе встречаются различные определения понятия «биологически активное вещество». Авторы данного учебного пособия предлагают следующее определение: «Биологически активное вещество – это соединение, способное взаимодействовать с одним или несколькими компонентами живой ткани, оказывая на них различное (как положительное, так и отрицательное) воздействие». Из определения видно, что к биологически активным веществам относятся и полезные, и вредные для человека соединения.

Биологически активные вещества (БАВ) подразделяются на природные или натуральные (растительного, животного или микробного происхождения) и синтетические. В учебном пособии представлены работы, посвященные получению и исследованию свойств различных классов биологически активных веществ.

Учебное пособие является важной частью курса «Химия биологически активных веществ». Теоретическая подготовка и выполнение лабораторных работ позволит студентам закрепить теоретические знания и получить необходимые навыки работы в химической лаборатории.

Основные правила безопасности при работе в лаборатории

В химической лаборатории необходимо:

- работать в халате, резиновых перчатках, использовать защитные очки;
- поддерживать чистоту и порядок на рабочем месте;
- проверять чистоту и целостность посуды до начала работы;
- проводить эксперимент в соответствии с методическими указаниями;
- нагревать жидкости осторожно, пользоваться держателем пробирок;
- работать с концентрированными щелочами и кислотами под тягой;
- при попадании кислоты на кожу быстро промыть пораженный участок большим количеством воды и обработать слабым раствором соды.
- при попадании щелочи на кожу рук смыть ее холодной водой и 2%-м раствором борной кислоты;
- работать с легковоспламеняющимися жидкостями (ЛВЖ) под тягой вдали от нагревательных приборов;
- сливать отработанные реактивы в специальные емкости.

Структура, содержание и оформление лабораторных работ

Отчет по лабораторной работе должен включать название, цель работы, краткое теоретическое введение, описание экспериментальной установки и методики эксперимента, экспериментальные результаты и их обсуждение, выводы.

Перед работой студент обязан пройти инструктаж по технике безопасности и знать методику выполнения эксперимента, только после этого он допускается к работе. По окончании лабораторной работы студент оформляет экспериментальную часть (результаты работы, их анализ, выводы) в лабораторном журнале. В разделе “Экспериментальные результаты и их анализ” приводятся данные, полученные в ходе проведения лабораторной работы. Раздел отчета должен содержать подробный анализ полученных результатов и объяснение этих результатов.

Выводы. В выводах кратко излагаются результаты работы. Если обнаружено несоответствие полученных результатов и литературных данных, необходимо обсудить возможные причины этих несоответствий.

Природные биологически активные вещества и их производные

1. Алкалоиды

Алкалоиды - это природные азотсодержащие органические соединения основного характера, имеющие сложный состав и обладающие сильным специфическим действием. Большинство их относится к соединениям с гетероциклическим атомом азота в кольце, реже азот находится в боковой цепи. Синтезируются преимущественно растениями.

Термин "алкалоид" (от араб. "alkali" - щелочь и греч. "eidos" - подобный) означает щелочноподобный. Подобно щелочам, алкалоиды образуют с кислотами соли. Термин "алкалоиды" был предложен немецким ученым К. Ф. В. Мейснером в 1819 году.

В растениях алкалоиды находятся в клеточном соке в растворенном виде. У некоторых растений алкалоиды содержатся во всех органах (например, красавка обыкновенная и кавказская), у большинства они преобладают в каком-либо одном органе. Часто у одного растения в разных органах имеется различное число алкалоидов, некоторые органы могут быть безалкалоидными. Например, мак опийный содержит алкалоиды во всех органах, кроме семян.

Биосинтез алкалоидов

Главными предшественниками в биосинтезе алкалоидов являются аминокислоты, прежде всего триптофан. Другим важным источником являются углеводы. Они последовательно превращаются в мевалоновую кислоту, геранилпирофосфат и затем в дитерпеновые и стероидные алкалоиды.

Классификация алкалоидов

1. *В зависимости от происхождения атома азота в структуре молекулы алкалоида* они подразделяются:

- на истинные алкалоиды – соединения, которые образуются из аминокислот и содержат атом азота в составе гетероцикла (гиосциамин, кофеин, платифиллин);

- протоалкалоиды – соединения, которые образуются из аминокислот и содержат алифатический атом азота в боковой цепи (эфедрин, капсаицин);

- псевдоалкалоиды – азотсодержащие соединения терпеновой и стероидной природы (соласодин);

2. *По фармакологическому действию на организм (фармакологическая классификация)* алкалоиды делятся:

- на наркотические алкалоиды;

- местноанестезирующие алкалоиды;

- спазмолитические алкалоиды;

- алкалоиды, обладающие курареподобным действием.

3. *В зависимости от вида растений, из которых получают алкалоиды (ботаническая классификация)*, различают:

- алкалоиды табака;

- алкалоиды мака;

- алкалоиды спорыньи.

4. В зависимости от предшественников различают:

- алкалоиды триптофана;
- алкалоиды фенилаланина;
- алкалоиды тирозина;
- алкалоиды орнитина;
- алкалоиды лизина.

5. В зависимости от строения (химическая классификация) алкалоиды подразделяются:

5.1. Ациклические алкалоиды с азотом в боковой цепи (без гетероциклов) (рис. 1. 1):

- а) эфедрин (фенилметиламинопропанол);
- б) колхицин;
- в) капсаицин.

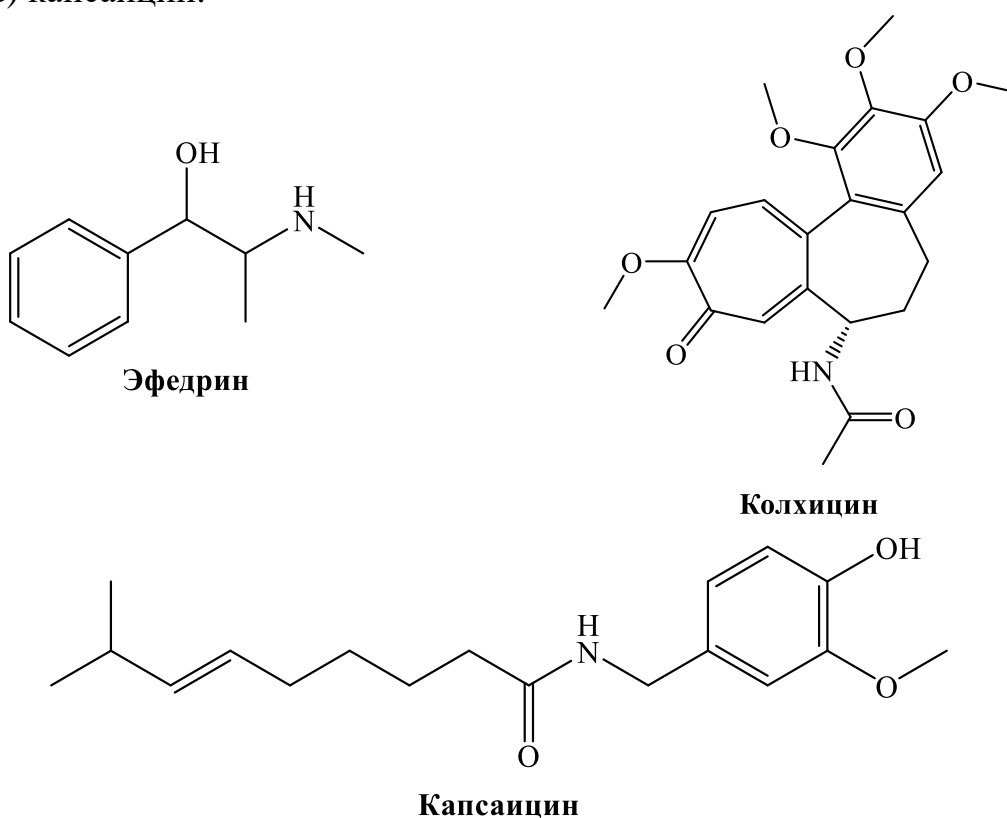


Рис. 1.1. Строение ациклических алкалоидов

5.2. Производные пирролидина

Примером данного класса соединений является гигрин (рис. 1.2);



Рис. 1.2. Строение пирролидина и гигрина

5.3. Производные пирролизидина (рис. 1.3):

- а) ретронексин;
 б) платифиллин, саррацин, сенецифиллин.

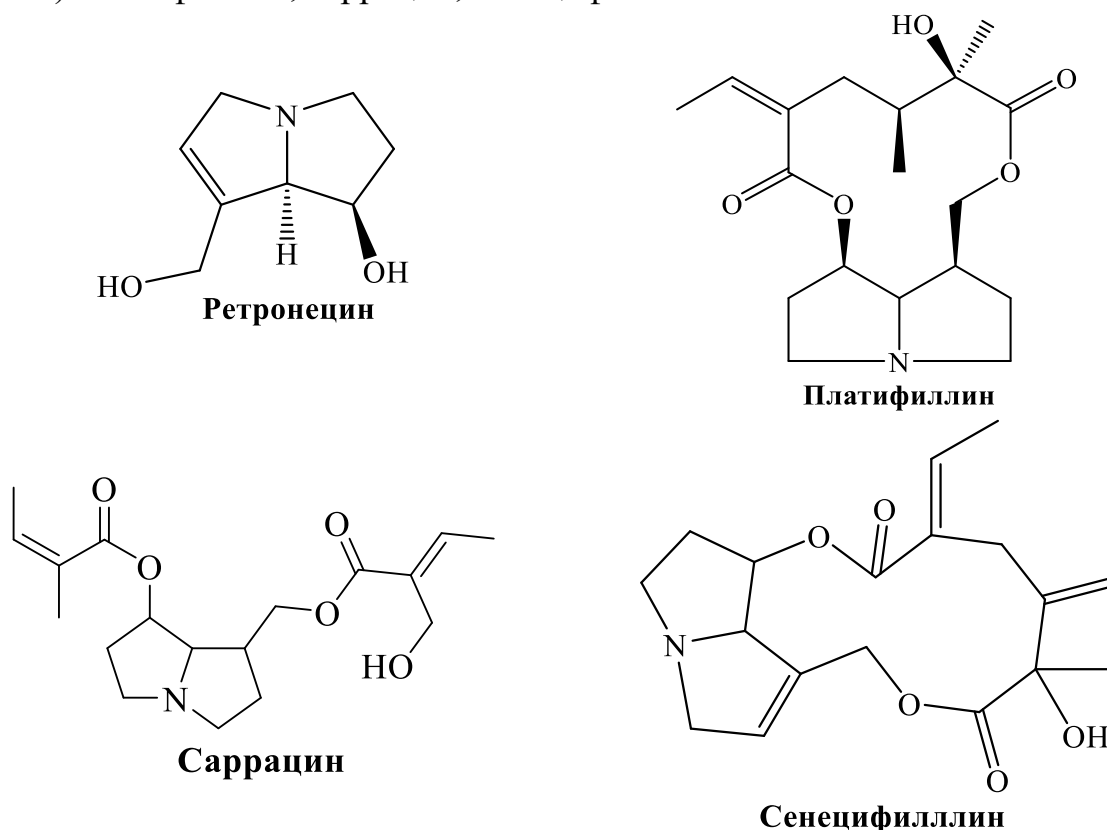


Рис. 1.3. Строение пирролизидиновых алкалоидов

5.4. Производные пиридина и пиперидина:

Это большая группа алкалоидов, в которой можно выделить несколько подгрупп (рис. 1.4):

- а) простые производные пиридина и пиперидина:

- лобелин;
- конииин.

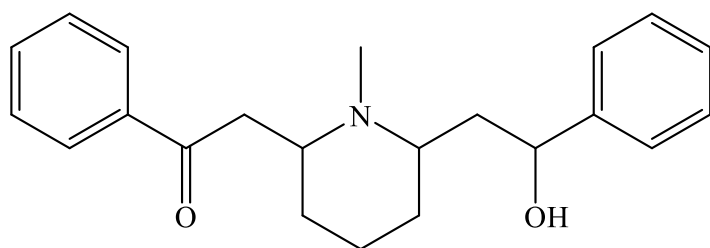
б) алкалоиды, содержащие гетероцикл в неизменном виде (собственно гетероцикл), т.е. бициклические неконденсированные системы:

- анабазин;
- никотин.

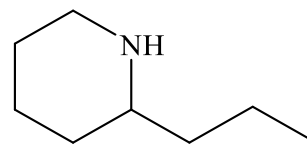
в) тропановые алкалоиды. Все тропановые алкалоиды содержат тропановое кольцо в своей химической структуре. Производные тропана это важнейшие лекарственные вещества. К данной группе веществ относятся:

- атропин - рацемическая смесь тропинового эфира D- и L-троповой кислоты;
- гиосциамин – сложный эфир тропина и троповой кислоты;
- скополамин (окисленная форма гиосциамин) – сложный эфир скопина и троповой кислоты;
- гоматропин – тропиновый эфир миндальной кислоты;

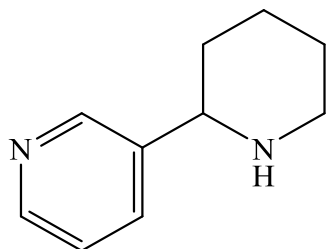
- тропацин – тропиновый эфир дифенилуксусной кислоты.



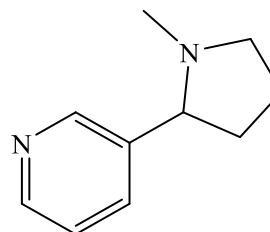
Лобелин



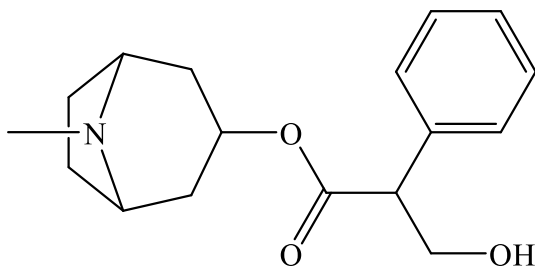
Кониин



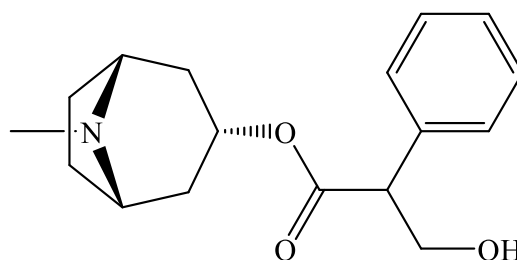
Анабазин



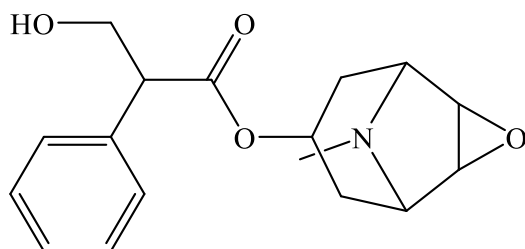
Никотин



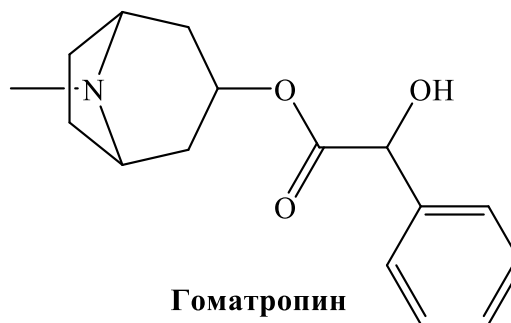
Атропин



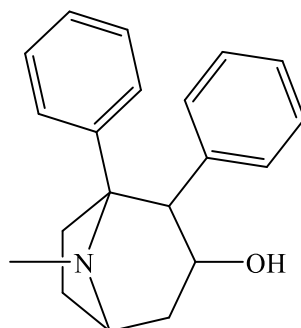
Гиосциамин



Скополамин



Гоматропин

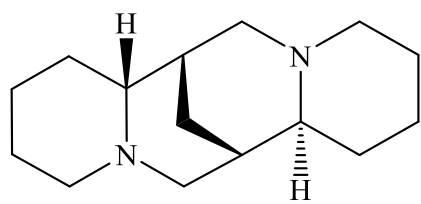


Тропацин

Рис. 1.4. Структура алкалоидов - производных пиридина и пиперидина

5.5. Производные хинолизида (два конденсированных кольца пиперидина с общим атомом азота) (рис. 1.5):

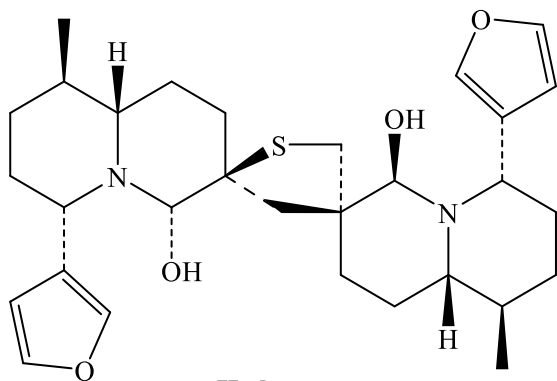
- пахикарпин;
- цитизин;
- нуфлеин;
- ликоподин.



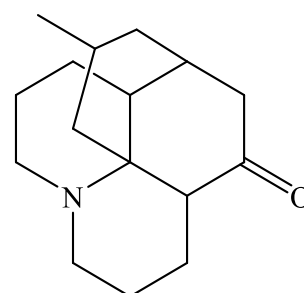
Пахикарпин



Цитизин



Нуфлеин

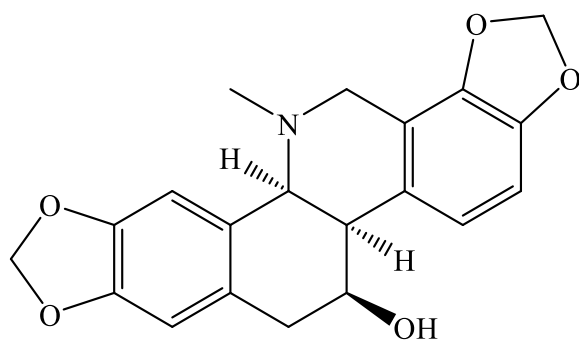


Ликопдин

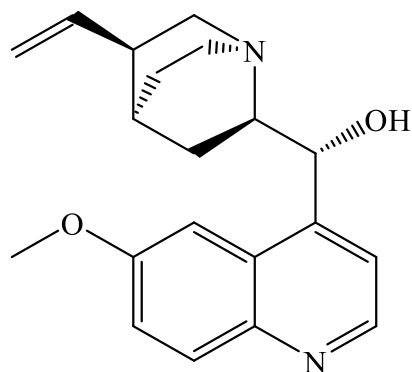
Рис. 1.5. Структура алкалоидов - производных хинолизида

5.6. Производные хинолина (рис. 1.6):

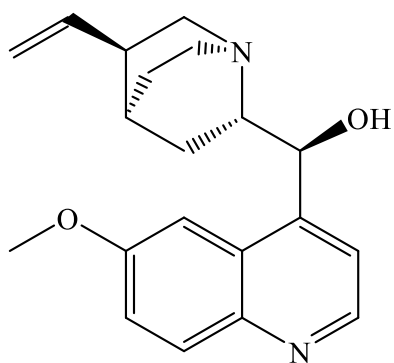
- хелидонин;
- хинин;
- хинидин;
- эхинопсин.



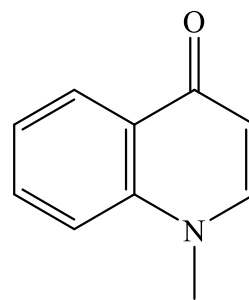
Хелидонин



Хинин



Хинидин

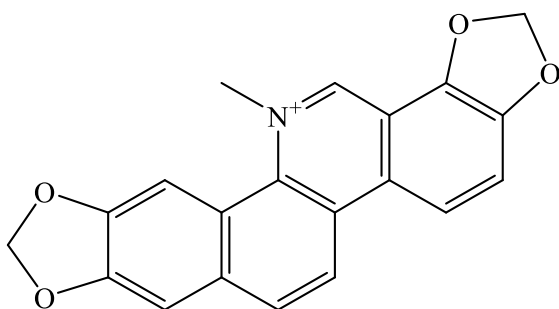


Эхинопсин

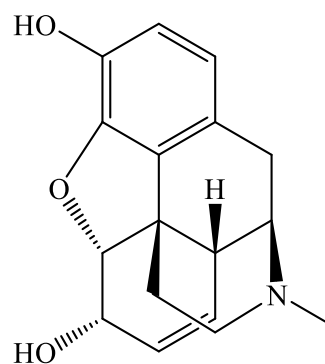
Рис. 1.6. Структура хинолиновых алкалоидов

5.7. Производные изохинолина (рис. 1.7):

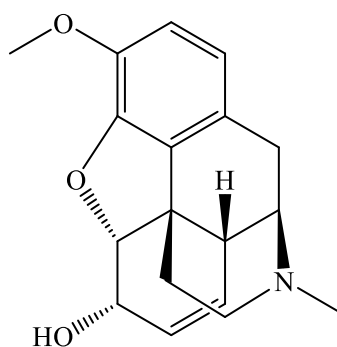
- сангвинарин;
- морфин;
- кодеин;
- папаверин;
- глауцин;
- берберин.



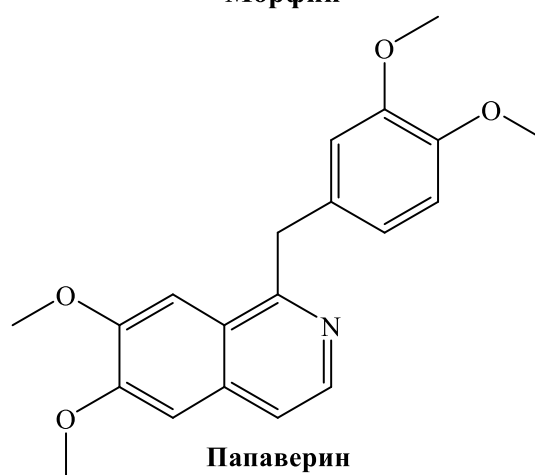
Сангвинарин



Морфин



Кодеин



Папаверин

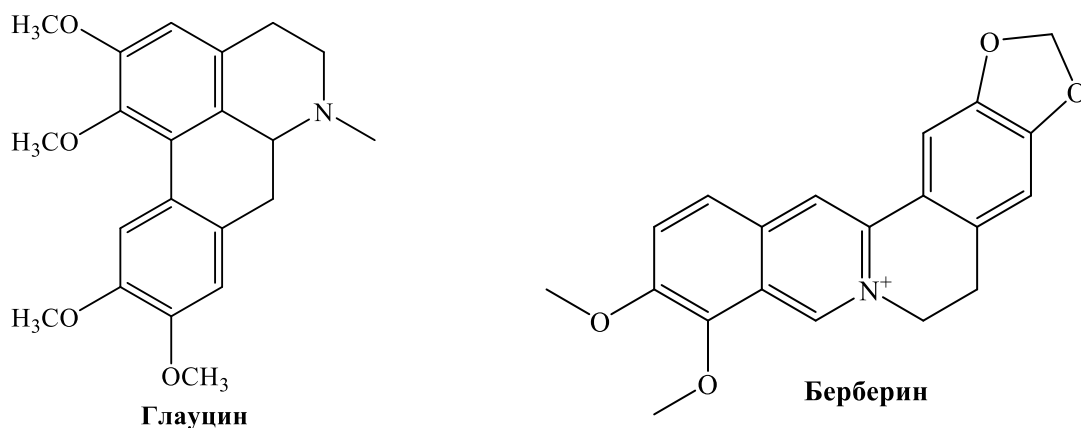
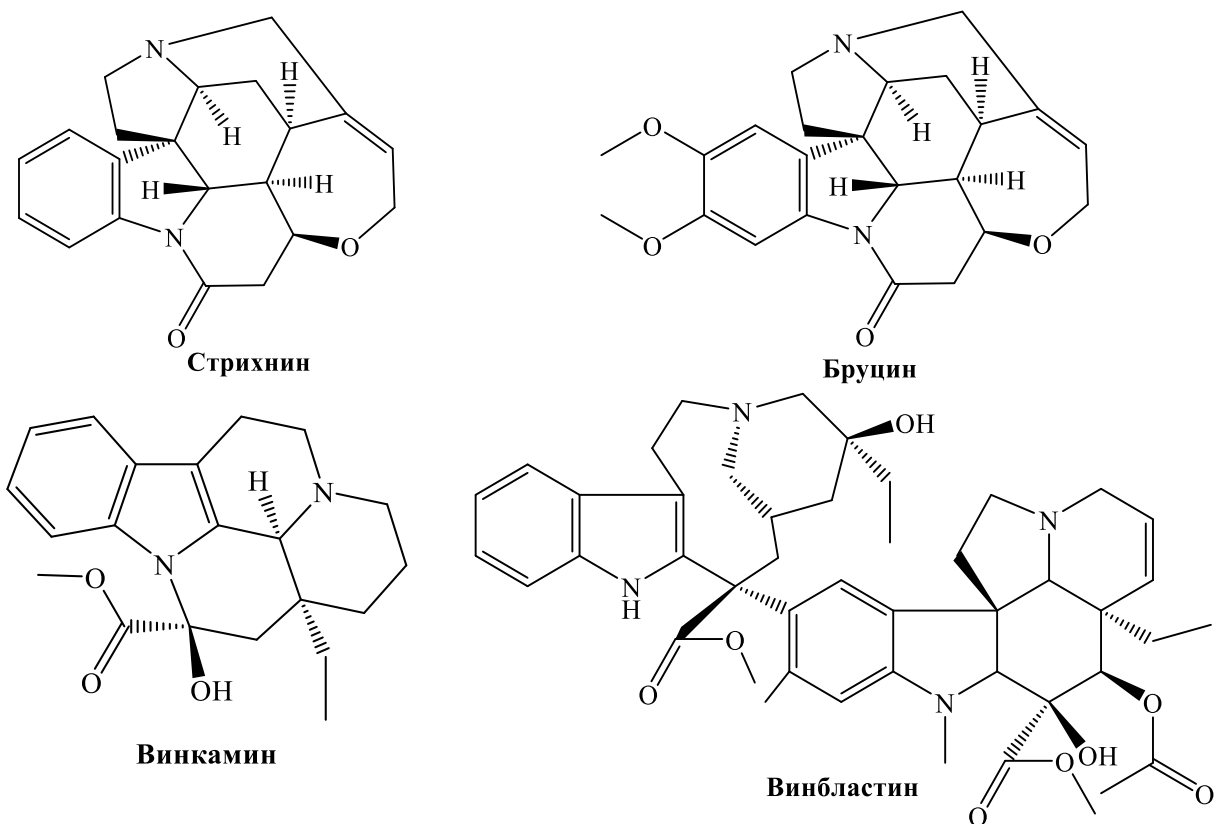


Рис. 1.7. Строение изохинолиновых алкалоидов

5.8. Производные индола (рис. 1.8):

- стрихнин;
- бруцин;
- винкамин;
- винбластин;
- гармин;
- эрготамин, эрготоксин, эргокрестин и другие производные лизергиновой кислоты.
- резерпин;



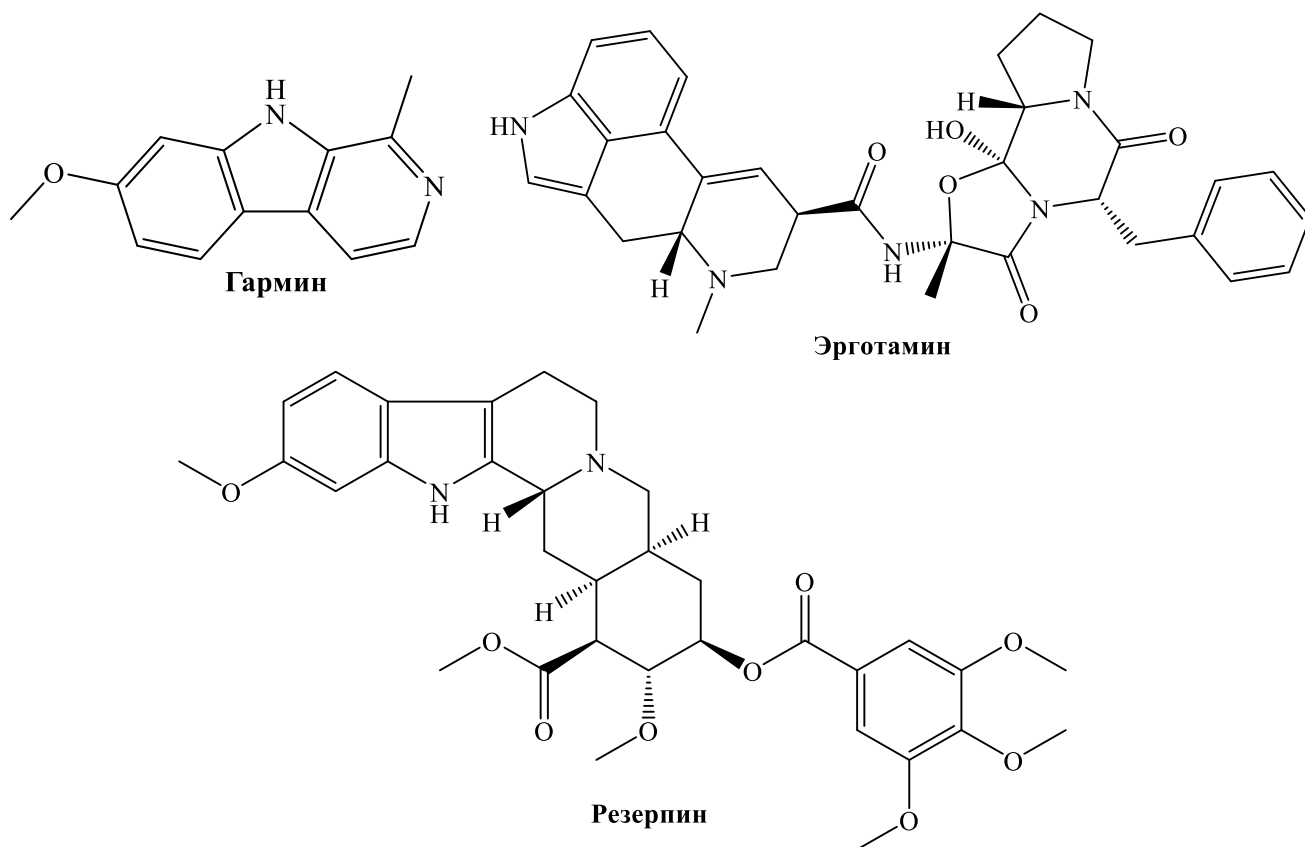
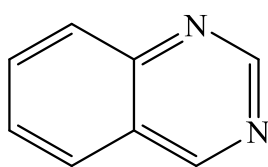


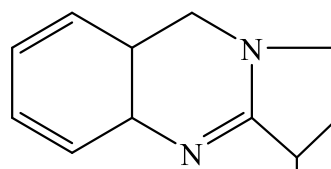
Рис. 1.8. Структура алкалоидов - производных индола

5.9. Производные хиназолина (рис. 1.9):

- хиназолин;
- пеганин.



Хиназолин

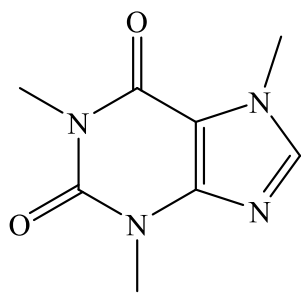


Пеганин OH

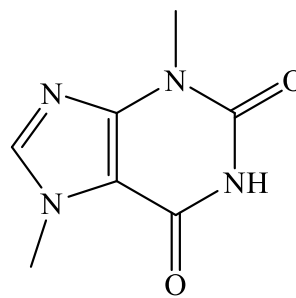
Рис. 1.9. Структура алкалоидов - производных хиназолина

5.10. Производные пурина (рис. 1.10):

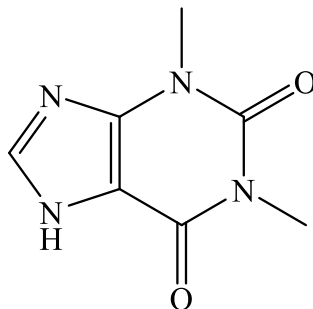
- кофеин;
- теобромин;
- теофиллин.



Кофеин



Теобромин

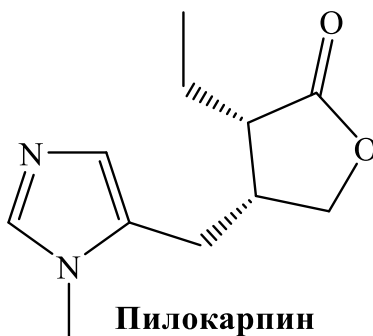


Теofilлин

Рис. 1.10. Структура некоторых алкалоидов, производных пурина

5.11. Производные имидазола (рис. 1.11):

- пилокарпин.



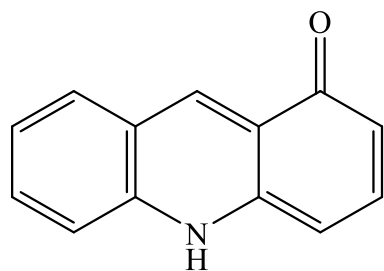
Пилокарпин

Рис. 1.11. Структура пилокарпина

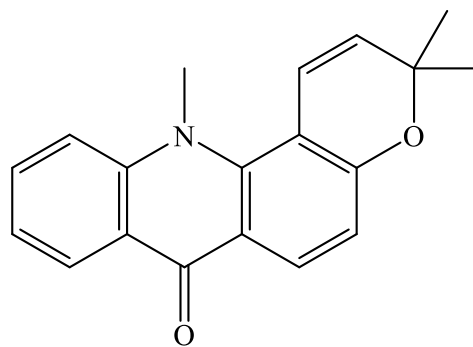
5.12. Производные акридина (рис. 1.12);

- акридон;

- акроницин;



Акридон



Акроницин

Рис. 1.12. Структура акридиновых алкалоидов

5.13. Стероидные гликоалкалоиды (гликозиды, у которых агликоны являются азотсодержащими стероидными соединениями) (рис 1.13)):

- иервин;
- соласодин.

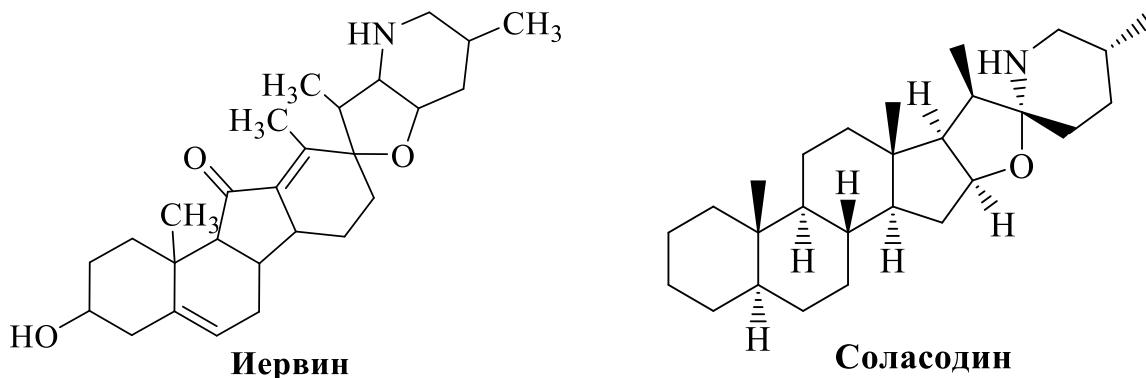


Рис. 1.13. Строение стероидных гликоалкалоидов

5. 14. Алкалоиды неустановленного строения

К данной группе относятся вновь выделенные алкалоиды, у которых не установлено химическое строение.

Лабораторная работа 1.1. Качественное определение алкалоидов

Цель работы

Изучение методов качественного обнаружения алкалоидов.

Теоретическое введение

Для обнаружения наличия алкалоидов в сырье используют следующие реакции:

- 1) осадительные;
- 2) цветные.

Осадительные реакции основаны на том, что большинство алкалоидов образуют осадок с танином, раствором Люголя, с пикриновой кислотой.

Окрашенные вещества образуются при воздействии на алкалоиды дегидратирующих агентов (H_2SO_4 конц.), окислителей (HNO_3 конц) и некоторых других веществ, например, реактива Фреде.

Большую часть алкалоидов нельзя надежно определить только по цветным реакциям, поэтому на практике параллельно используются и осадительные, и цветные реакции.

Оборудование и реактивы

Ступка, пестик, пробирки (6 шт.), держатель пробирок, химический стакан объемом 50 мл, H_2SO_4 (конц.), HNO_3 (конц.), реактив Фреде, 5%-й раствор таннина, 5%-й раствор Люголя, насыщенный раствор пикриновой кислоты.

Реактив Фреде используется свежеприготовленным. 1%-й раствор молибдата аммония добавляют к концентрированной серной кислоте в химическом стакане при перемешивании до его полного растворения. Получившийся реактив Фреде должен быть прозрачным.

Раствор Люголя представляет собой водный раствор йода и йодида калия. 5%-й раствор Люголя готовят растворением 2,5 г йода и 5 г йодида калия в 42,5 г дистиллированной воды.

Ход работы

Исследуемый образец измельчают в ступке. К полученному порошку добавляют 6 мл дистиллированной воды и тщательно растирают до получения однородной суспензии. Затем разделяют полученную суспензию на шесть равных частей и помещают в пробирки. В каждую пробирку добавляют один из реактивов, представленных в табл. 1. Наблюдают за изменениями в пробирке и заносят результаты в табл. 1.

Указанные действия повторяют и с другими образцами.

Таблица 1.1. Экспериментальные данные

Номер образца	H_2SO_4 (конц)	HNO_3 (конц)	Реактив Фреде	Таннин	Раствор Люголя	Раствор пикриновой кислоты
1						
2						
3						
4						

На основании полученных экспериментальных данных делают выводы о наличии в представленных образцах алкалоидов.

Лабораторная работа 1.2. Выделение никотина из растительного сырья

Цель работы

Изучение методов выделения никотина из растительного сырья.

Теоретическое введение

Существует несколько способов очистки алкалоидов:

1. Отгонка;
2. Экстракция:
 - 2.1) экстракция в виде солей;
 - 2.2) экстракция в виде свободных оснований.

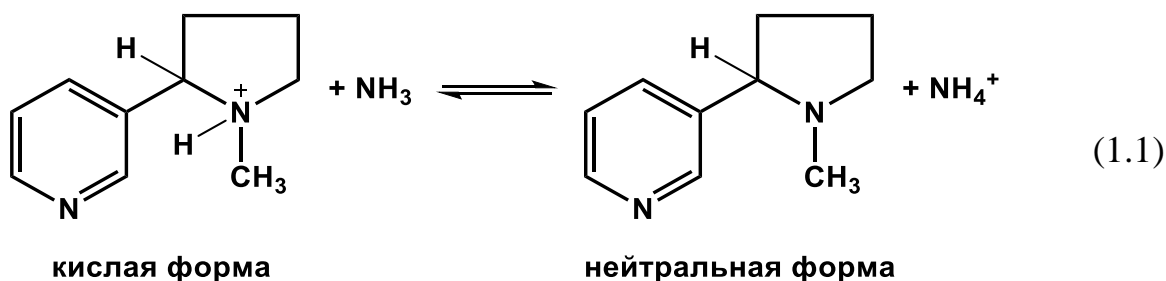
Первый способ применим только для легколетучих алкалоидов. Хотя никотин можно выделить отгонкой, в данной лабораторной работе используется более распространенный метод экстракции в виде свободного основания.

Никотин – один из самых известных алкалоидов табака (рис. 1.4). Он представляет собой маслянистую жидкость слабо-коричневого цвета с характерным табачным (махорочным) запахом.

Никотин и некоторые его производные являются ганглиоблокаторами и действуют на н-холинорецепторы центральной и периферической нервной системы. Влияние никотина зависит от его количества. В малых дозах никотин активирует н-холинорецепторы, а в больших, напротив, угнетает их.

При остром отравлении никотином наблюдается тошнота, рвота, брадикардия, а затем тахикардия и судороги угнетения вплоть до остановки дыхания. Никотин используют в качестве сырья при получении никотиновой кислоты и синтезе препаратов на её основе. В чистом виде никотин ограниченно применяют как инсектицид и эктопаразитоцид в ветеринарии.

Никотин в растениях находится в кислой форме (уравнение 1.1). В этой форме он не растворяется в неполярных растворителях.



Обработка растительного сырья щелочным раствором (например, водным раствором аммиака) способствует переходу никотина в нейтральную форму. Эта форма растворяется в неполярных растворителях, что позволяет легко извлечь его из исходного материала.

Оборудование и реактивы

Химический стакан 50 мл, стеклянная палочка, плоскодонная колба 250 мл, воронка, делительная воронка, водяная баня, табак, 1%-й раствор соляной кислоты, 10%-й водный раствор аммиака, 1%-й раствор гидроксида натрия, диэтиловый эфир, вата.

Ход работы

Сухой измельченный растительный материал массой 1 – 5 г помещают в колбу и добавляют 10%-й водный раствор аммиака или 1%-й раствор гидроксида натрия до полного смачивания сухого материала и выдерживают 10 – 15 мин без нагревания. Затем в колбу добавляют равный объем хлороформа или петролейного эфира. Полученную смесь энергично встряхивают в течение не менее 2 ч или оставляют на ночь. Затем содержимое колбы фильтруют и осадок на фильтре слегка отжимают. С помощью делительной воронки из полученной вытяжки в колбу отбирают экстракт – неводную фракцию (в случае хлороформа – нижний слой, при использовании петролейного эфира – верхний слой). Водная фракция сливается в отдельный химический стакан и не используется в дальнейшей работе. В полученном экстракте содержатся алкалоиды и примеси, перешедшие в неполярный растворитель, поэтому необходимо провести очистку экстракта. Для этого к экстракту в колбе добавляют 10 – 20 мл 10%-го раствора соляной кислоты. Используемые растворители и соляная кислота взаимно не растворимы, поэтому формируется граница раздела фаз. Колбу энергично встряхивают в течение 1 ч. Молекулы алкалоидов по действием соляной кислоты переходят из нейтральной в кислую форму. В этой форме алкалоиды растворимы только в полярном растворителе. Поэтому они постепенно извлекаются из исходного органического экстракта и накапливаются в водном растворе соляной кислоты.

По истечении 1 ч с помощью делительной воронки необходимо отделить солянокислую фазу, содержащую алкалоиды, от органического растворителя, содержащего примеси.

Для отделения алкалоидов от соляной кислоты повторяют первую стадию для обратного перевода алкалоидов в форму свободных оснований с последующей экстракцией нейтральных форм алкалоидов хлороформом или петролейным эфиром. Неводную фракцию отбирают с помощью делительной воронки и упаривают досуха на роторном испарителе при 40 – 50 °С. Осадок растворяют в 2 – 3 мл этанола и проводят качественный анализ на наличие алкалоидов (см. лабораторную работу 1). На основании полученных данных делают выводы по лабораторной работе.

Контрольные вопросы

1. Алкалоиды: классификация, строение.
2. Алкалоиды: получение, использование в пищевой промышленности и медицине.
3. Основные аминокислоты, участвующие в синтезе алкалоидов.
4. На чем основано качественное определение алкалоидов?
5. Типы качественных реакций, используемых для обнаружения алкалоидов.
6. Методы выделения алкалоидов из растительного сырья.
7. На чем основана экстракция алкалоидов из растительного сырья?

2. Хлорофиллы

Хлорофилл – это зелёный пигмент, окрашивающий хлоропласты растений и водорослей в зелёный цвет. При его участии осуществляется процесс фотосинтеза. Хлорофиллы представляют собой магниевые комплексы хлороина (рис. 2.1).

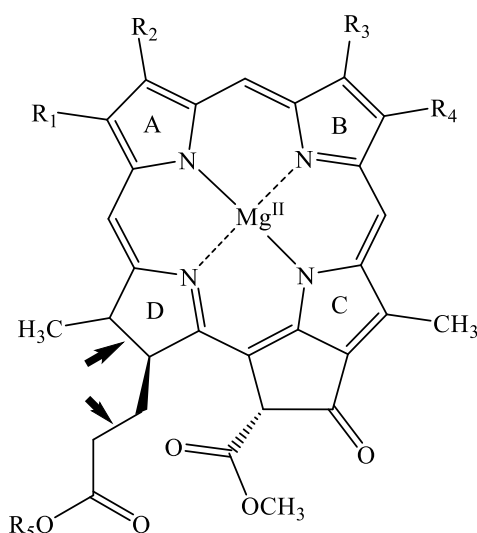


Рис. 2.1. Структура хлорофилла

В зависимости от строения заместителей (R_{1-5}) хлороинового кольца выделяют 5 основных классов хлорофиллов: а, b, с, d и f (табл. 2.1). Хлорофилл «с» дополнительно подразделяют на три подкласса: c_1, c_2, c_3 . Хлорофилл «с» отличается от других хлорофиллов наличием дополнительной двойной связи в кольце D и двойной связи в боковой цепи (положение данных связей показано стрелками на рис. 2.1).

В составе золотистых водорослей найден новый хлорофилл, который обозначен буквой «е». Однако он очень редко встречается в природе.

Таблица 2.1. Классификация хлорофиллов в зависимости от типа заместителя

Положение заместителя	Хлорофилл а	Хлорофилл b	Хлорофилл c_1	Хлорофилл d,	Хлорофилл f
R_1	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	$-\text{CHO}$
R_2	$-\text{C}=\text{CH}_2$ H	$-\text{C}=\text{CH}_2$ H	$-\text{C}=\text{CH}_2$ H	$-\text{CHO}$	$-\text{C}=\text{CH}_2$ H
R_3	$-\text{CH}_3$	$-\text{CHO}$	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$
R_4	$-\text{CH}_2\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2\text{CH}_3$
R_5^*	фитольный остаток	фитольный остаток	H	фитольный остаток	фитольный остаток

* Фитольный остаток - это длинный гидрофобный радикал, посредством которого хлорофилл связан с гидрофобными белками клеточной мембраны (рис. 2.2).

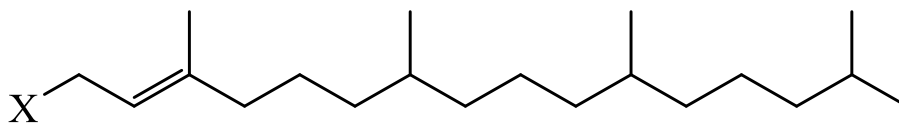


Рис. 2.2. Строение фитольного остатка (X – остаток хлорофилла)

Хлорофиллы могут быть выделены из растительного сырья. Однако они не устойчивы на свету и разрушаются.

Интерес к химии хлорофиллов обусловлен не только их важной ролью в живой природе (участие в фотосинтезе). Употребление в пищу продуктов, полученных из растительного сырья, богатого хлорофиллами, оказывает положительное влияние на здоровье человека. Хлорофиллы также используются в качестве сырья для получения веществ, обладающих ценными свойствами. Медные комплексы хлорофилла и его производные являются высокостабильными соединениями, окрашенными в зеленый цвет. Они широко используются в качестве красителей в пищевой промышленности (E 141(i), E141(ii)), а также в производстве кормов для животных. Интерес к хлорофиллам и его производным также обусловлен возможностью применения их в медицине в качестве лекарства (табл. 2.2).

Таблица 2.2. Хлорофилл и его производные, используемые в медицине

Природный хлорофилл	Хлорофилл a, b, c, d, e
Безметалльные производные хлорофилла	Феофитин, Пирофеофитин
Металлосодержащие производные хлорофилла	Zn – феофитин Zn - пирофеофитин Cu – хлорин e ₄ Cu – хлорин e ₆ этиловый эфир Cu-хлорин e ₄

Лабораторная работа 2.1. Выделение хлорофилла из спирулины

Цель работы

Изучение методов извлечения хлорофилла из растительного сырья.

Теоретическое введение

Хлорофиллы выделяют из растений и водорослей. Широкое промышленное применение нашли сине-зеленые водоросли, имеющие название спи-

рулина. Эти водоросли содержат также белки, углеводы, витамины, минеральные вещества. Благодаря этому спирулина используется в сухом виде в качестве ценной пищевой добавки к питанию человека.

Хлорофиллы хорошо растворяются в неполярных растворителях и плохо в воде, поэтому хлорофиллы выделяют из растительного сырья экстракцией неполярными растворителями.

Оборудование и реактивы

Плитка, водяная баня, колонка, весы, химический стакан, колба, термометр, стеклянная палочка, воронка Бюхнера, колба Бунзена, мерный цилиндр, хроматографическая колонка, спектрофотометр Cary 50, спирулина, ацетон, петролейный эфир, дихлорметан, сорбент для хроматографии (оксид алюминия, мел).

Ход работы

1. Приготовление экстракта спирулины

Помещают в коммерческий блендер 100 гр. сухой спирулины, 200 мл дистиллированной воды и тщательно измельчают в течение 5 – 10 мин. Полученную смесь фильтруют на воронке Бюхнера. При замедлении фильтрации из-за засорения фильтра необходимо заменить фильтровальную бумагу в воронке. 100 мл полученного чистого фильтрата помещают в плоскодонную колбу объёмом 250 мл. В неё добавляют 50 мл смеси петролейного эфира и ацетона, взятых в соотношении 8:2 и энергично встряхивают в течение 5 мин. Полученный раствор переливают в делительную воронку. Водный нижний зелёный слой сливают обратно в колбу, а органический верхний светло-зелёный слой собирают в другую плоскодонную колбу того же объёма. К водному раствору добавляют ещё 50 мл раствора смеси петролейного эфира и ацетона, и цикл повторяют вновь. Об окончании экстрагирования судят по прекращению окрашивания свежей порции смеси петролейного эфира и ацетона при добавлении к водному экстракту. Затем необходимо удалить воду из органического слоя. Для сушки органического слоя к нему необходимо добавить 75 г безводного сульфата натрия и перемешивать полученную суспензию в течение 45 мин. Высушенный органический слой фильтруют на воронке Бюхнера. Из полученного экстракта удаляют растворитель на ротационном испарителе под вакуумом при температуре 35 °С. В результате получают тёмно-зелёную жидкость (1 – 3 мл), которую разбавляют небольшим количеством смеси петролейного эфира и ацетона и направляют на хроматографирование.

2. Подготовка хроматографической колонки

Закрепляют в держателе стеклянную бюретку на 25 мл. Необходимо убедиться, что бюретка установлена вертикально и плотно зажата. В стакан ёмкостью 150 мл наливают около 20 мл петролейного эфира и ставят его под

колонку. Небольшой кусочек ваты смачивают петролейным эфиром и аккуратно помещают его в основание колонки, используя длинную стеклянную или деревянную палочку. Во второй химический стакан емкостью 150 мл вносят 5 г сорбента (оксид алюминия), добавляют элюент (30 мл петролейного эфира) и перемешивают до равномерного смачивания сорбента. Через некоторое время суспензию взбалтывают и выливают при помощи химической воронки в колонку. Остатки сорбента смывают со стенок химического стакана элюентом. При проведении хроматографирования слой сорбента не должен пересыхать, так как это приводит к снижению эффективности разделения. После упаковки сорбента необходимо поместить на его верхний слой второй кусочек ватки, смоченный в петролейном эфире. Это позволит защитить поверхность сорбента от размывания элюентом.

3. Хроматографическое разделение экстракта

Когда уровень петролейного эфира приближается к верхнему слою сорбента, вносят анализируемый экстракт спирулины на колонку. После того как экстракт полностью впитается сорбентом, добавляют петролейный эфир. β -каротин начинает двигаться вниз по колонке в виде желто-оранжевой полосы, а хлорофилл удерживается в верхней части колонны. После окончания движения оранжевой полосы вниз по колонке вместо петролейного эфира для элюирования используют дихлорметан. Собирают желтую фракцию в колбу или химический стакан. Элюирование продолжают до тех пор, пока элюат не станет бесцветным. Затем для элюирования используют ацетон до тех пор, пока весь хлорофилл не выйдет из колонки (колонка будет иметь светло-зеленый цвет). Экстракты β -каротина и хлорофилла упаривают по очереди на роторном испарителе при температуре 25 - 35 °С под вакуумом. В случае β -каротина упаривание ведут до образования желто-оранжевого порошка. При упаривании раствора хлорофилла получается темно-зеленое слизистое вещество.

4. Электронные спектры поглощения β -каротина и хлорофилла

Работу на спектрофотометре Cary 50 проводят согласно инструкции на прибор под руководством преподавателя.

Для работы на спектрофотометре используют слабоокрашенные растворы β -каротина и хлорофилла в петролейном эфире. Эти растворы готовят путем постепенного разведения небольшого количества полученных веществ в вышеуказанном растворителе. Затем их помещают в кювету с толщиной 1 см и записывают для каждого раствора электронные спектры поглощения. Полученные результаты сопоставляют с данными литературы.

Контрольные вопросы

1. Хлорофиллы: строение, классификация.
2. Роль хлорофиллов в природе.
3. Влияние хлорофиллов на человека.
4. Применение хлорофиллов в пищевой промышленности и медицине.
5. Методы выделения хлорофиллов из растительного сырья.
6. На чем основана экстракция хлорофиллов из растительного сырья?
7. Что такое хроматография? Области применения хроматографического анализа.
8. Чем отличаются электронные спектры поглощения β - каротина и хлорофилла?

3. Терпены

Терпены - природные соединения, имеющие общую формулу $(C_5H_8)_n$. В больших количествах терпены содержатся в растениях; микроорганизмы также способны их синтезировать. Они составляют самый большой класс природных веществ, известно более 55 000 соединений. Терпены положительно влияют на здоровье человека: они оказывают противоопухолевое, противомикробное, противогрибковое, противовирусное, антигипергликемическое, анальгетическое, противовоспалительное и противопаразитарное действия.

Терпены относятся к классу углеводов. В основе структуры этих соединений лежит изопрен (рис 3.1).

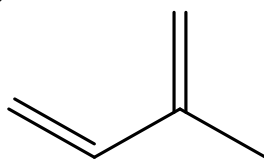


Рис. 3.1. Строение изопрена

В зависимости от числа изопреновых звеньев все терпены делят на следующие группы:

- 1) $C_{10}H_{16}$ - монотерпены, содержат два изопреновых фрагмента. Входят в состав легколетучих фракций эфирных масел;
- 2) $C_{15}H_{24}$ - сесквитерпены, содержат три изопреновых фрагмента. Входят в состав тяжелолетучих (часто не перегоняются с водяным паром) фракции эфирных масел;
- 3) $C_{20}H_{32}$ - дитерпены, содержат четыре изопреновых фрагмента. Входят в состав ряда смол;
- 4) $C_{30}H_{48}$ - тритерпены, содержат шесть изопреновых фрагментов. Являются частью молекулы сапонинов;
- 5) $C_{40}H_{64}$ - тетратерпены, содержат восемь изопреновых фрагментов. Образуют разные пигменты, в том числе каротиноиды;
- 6) $(C_{10}H_{16})_n$ – политерпены, к ним относятся каучук и гуттаперча.

Монотерпены $C_{10}H_{16}$

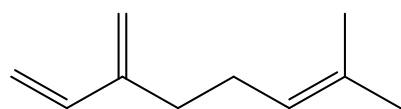
В зависимости от строения монотерпены подразделяют (рис. 3.2):

- на алифатические (мирцен),
- моноциклические (ментол, лимонен),
- бициклические (α -пинен, β -пинен, сабинен, камфен, камфора),
- ароматические (п-цимол).

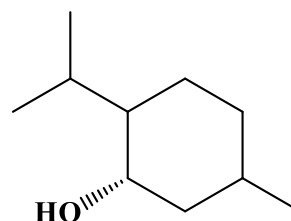
Свойства монотерпенов:

- легко растворяются в органических растворителях.
- обладают очень тонким приятным запахом; благодаря этому они нашли широкое применение в парфюмерии и используются в качестве ароматизаторов (например, при проведении ароматерапии);
- легко проникают через мембраны клеток в виде неполярных (и, следовательно, липофильных) соединений;

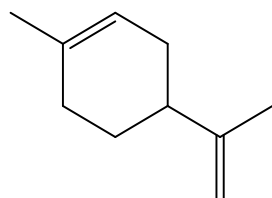
- усиливают проникновение лекарств через кожу;
- как правило, монотерпены проявляют антимикробные и противогрибковые свойства;
- являются спазмолитиками;
- некоторые из них являются гликозидами (например, нерол, цитронеллол, гераниол).



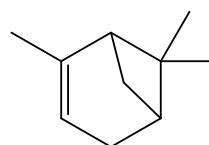
Мирцен



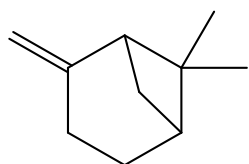
Ментол



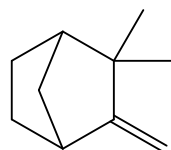
Лимонен



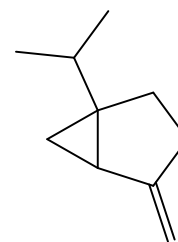
α -Пинен



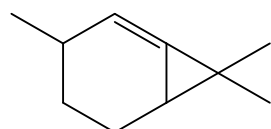
β - Пинен



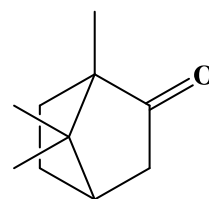
Камфен



Сабинен



Карен



Камфора

Рис. 3.2. Структура монотерпенов

Алифатические монотерпены представляют собой главную, наиболее ценную часть эфирного масла таких растений, как хмель, роза, герань, эвкалипт, лаванда, жасмин, цитрусовые.

Моноциклические монотерпены - это наиболее широко распространенная группа терпенов и, как правило, количественно преобладающая в эфирных маслах многих растений. Они используются как ценные лекарственные средства в индивидуальном виде (ментол) или являются основными компонентами многих эфирных масел.

Ментол и ментон содержатся в эфирном масле мяты перечной.

Лимонен содержится в эфирном масле лимона и сосны.

Бициклические монотерпены - это соединения с двумя конденсированными неароматическими кольцами и одной этиленовой связью. Известны следующие типы этих соединений: тип пинена, тип камфена, тип сабинена и тип карена.

Пинен - главный компонент скипидара (сосна), имеющего широкое применение в медицине. Пинен используется в органическом синтезе и технике.

Камфен содержится в небольших количествах в скипидарах и хвойных эфирных маслах, откуда его выделяют ректификацией или вымораживанием; он найден также в лавандовом, фенхельном и других эфирных маслах; в промышленности его получают каталитической изомеризацией пинена.

Сабинен содержится в эфирных маслах можжевельников, получаемых из хвои перегонкой с паром. Кроме того, сабинен содержится в эфирных маслах майорана, герани, сосны.

Известны две формы сабинена - D и L, они содержатся в ряде эфирных масел, например, в масле можжевельников.

Известно 4 изомера карена, которые различаются между собой по положению двойной связи. 3-карен применяют для получения душистых веществ, в частности, ментола, вальтерилацетата и ряда других веществ.

Кислородные производные бициклических терпенов отличаются большим разнообразием. Хорошо известным примером таких терпенов является камфора - главный компонент эфирного масла камфорного лавра, камфорного базилика, некоторых видов полыни и других растений. Камфору используют в медицине и ароматерапии.

Сесквитерпены $C_{15}H_{24}$

Сесквитерпены подразделяются на алифатические и циклические.

Алифатические сесквитерпены - это ненасыщенные соединения жирного ряда с 4 двойными связями. К ним относятся соединения типа фарнезана, например, β -фарнезен, неролидол (рис 3.3)

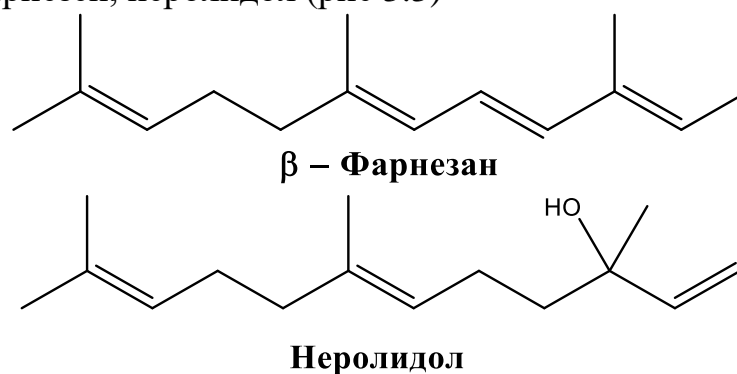


Рис. 3.3. Строение алифатических сесквитерпенов

Моноциклические сесквитерпены - это ненасыщенные соединения жирного ряда с тремя двойными связями. Этот класс соединений подразделяется на следующие группы (рис. 3.4):

- группа бисаболана - α - и β -бисаболены - в форме фарнезилпирофосфата они присутствуют в эфирных маслах различных растений, включая кубеб, лимон и орегано. Они играют роль феромонов у насекомых. Бисаболены являются

промежуточными соединениями в биосинтезе различных природных химических соединений, например, натурального подсластителя гернандульцина. β -бисаболен имеет бальзамический запах и применяется в качестве пищевой добавки;

- группа гумулана - α -гумулен, кариофиллен - являются основными компонентом (до 15 - 20%) эфирного масла хмеля, придаёт вкус вьетнамскому кориандру и конопле посевной;

- группа элемана - δ - и γ -элемены. Элемены участвуют в формировании цветочного запаха у некоторых растений и используются в качестве феромонов некоторыми насекомыми.

- группа гермакрана (гермакрены); гермакрены вырабатываются определенными видами растений. Гермакрены обладают антимикробными и инсектицидными свойствами.

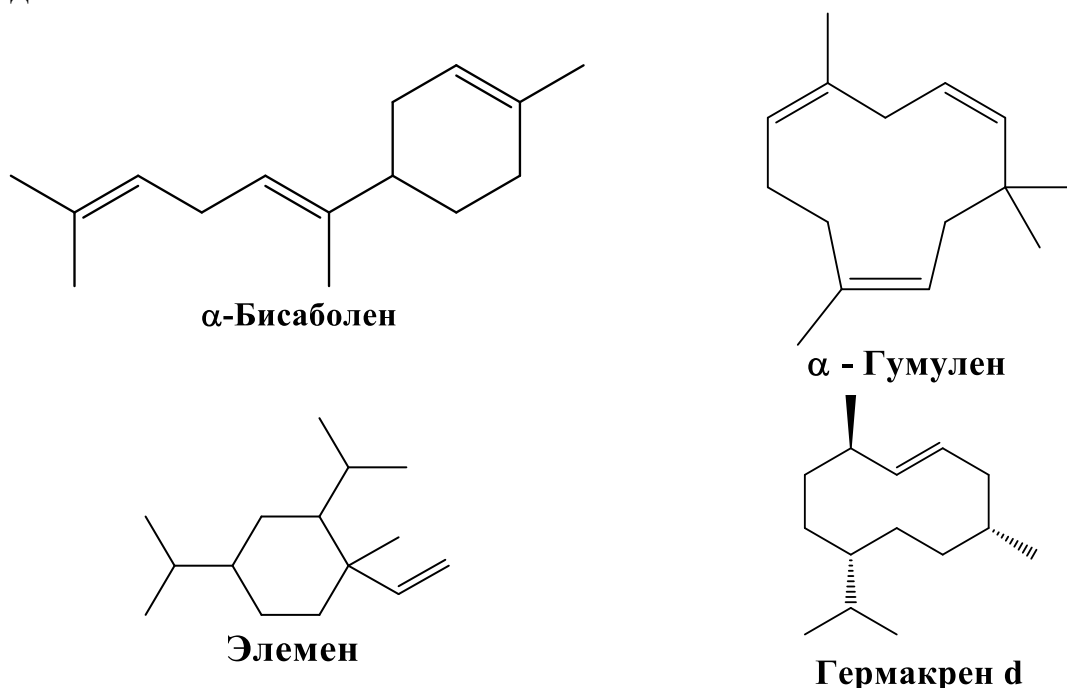
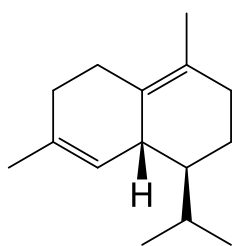


Рис. 3.4. Структура моноциклических сесквитерпенов

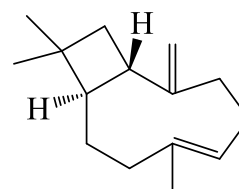
Бициклические сесквитерпены - это ненасыщенные соединения жирного ряда с двумя двойными связями. Этот класс соединений подразделяется на группы (рис. 3.5):

- группа кадинана (α -, γ -, δ - и ϵ -кадинены). Они содержатся в древесине можжевельника и кедра;

- группа кариофиллана, например, кариофиллен. Кариофиллен является природным бициклическим соединением, содержит циклобутановое кольцо и транс-двойную связь в 9-членном кольце. Он входит в состав гвоздичного масла, масла из стеблей и цветов гвоздики, эфирного масла каннабиса, розмарина, хмеля. В черном перце кариофиллен участвует в формировании пряного вкуса. Кариофиллен применяется в парфюмерии, в производстве ароматизаторов для мыла и косметических изделий, в синтезе некоторых душистых веществ.



σ – Кадинен



Кариофиллен

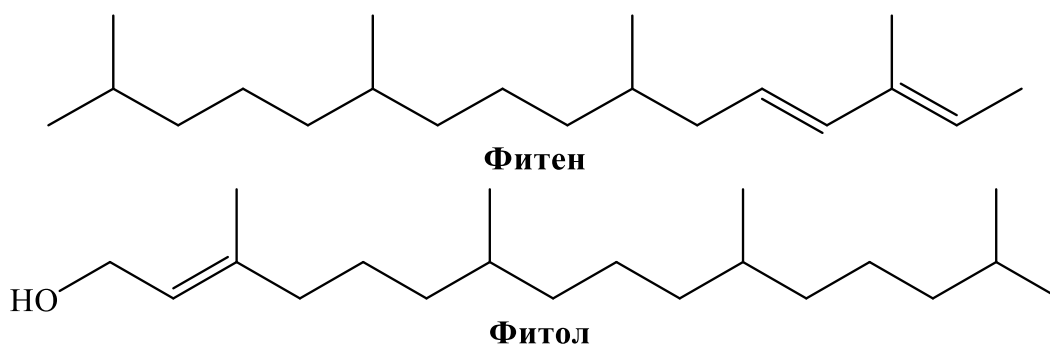
Рис. 3.5. Структура бициклических сесквитерпенов

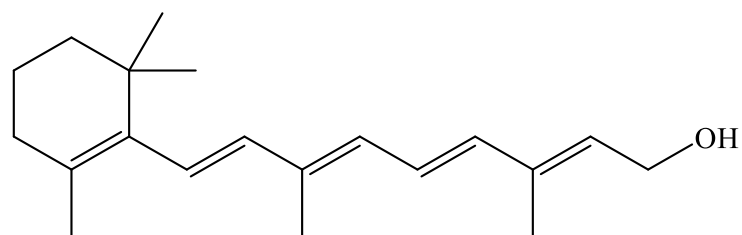
- группа муrolана (α -, γ - и ϵ -муrolены);
- группа булгарана (ϵ -булагарен);
- аморфана (α -аморфен);
- селинана (α -селинен, сибирен);

Дитерпены $C_{20}H_{32}$ и их кислородсодержащие производные - дитерпеноиды

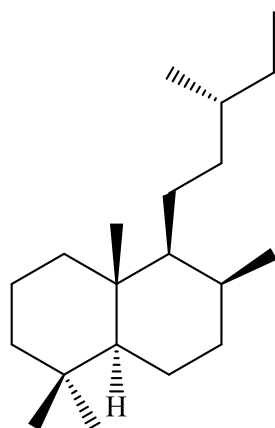
Различают следующие группы дитерпенов в зависимости от количества циклов (рис. 3.6):

- алифатические. К этой группе относится фитен и его производное фитол, входящий в состав молекулы хлорофилла, токоферолов, филлохинонов.
- моноциклические. Важным представителем является дитерпеноид ретинол (витамин А) и его производные;
- бициклические. Бициклический дитерпен лабдан обладает антибактериальной, противогрибковой, противопротозойной и противовоспалительной активностью;
- трициклические. В большом количестве содержатся в хвойных растениях. К ним относятся производные абиетана (абиетиновая кислота, ферругинол) и таксана;
- тетрациклические (гиббереллины, андромедотоксины).

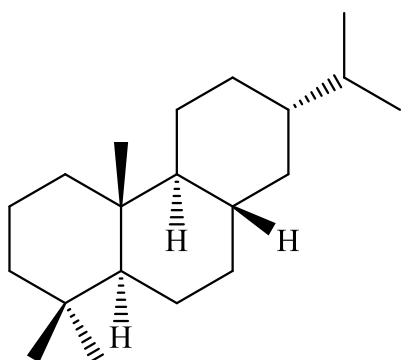




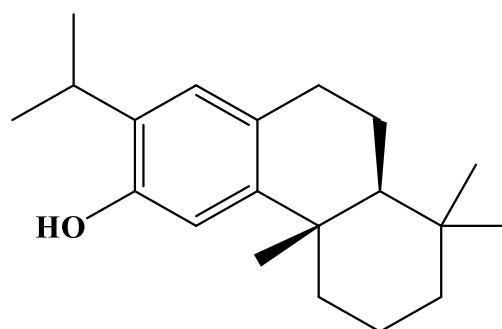
Витамин А



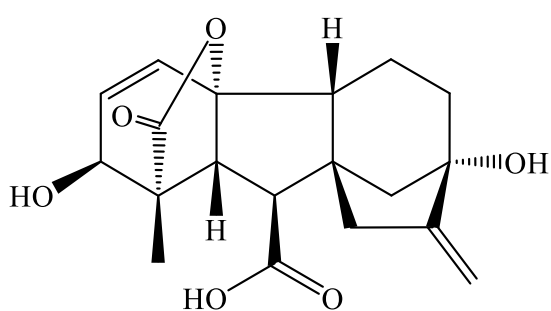
Лабдан



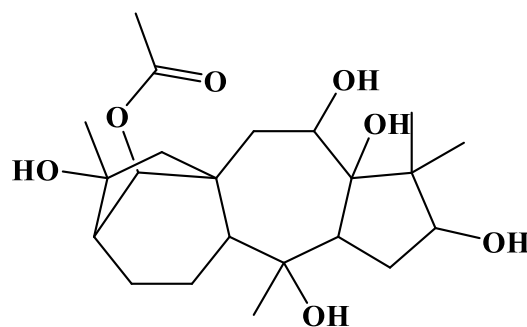
Абиетан



Ферругинол



Гиббереллин



Андромедотоксин I

Рис. 3.6. Структура дитерпенов

Тритерпены $C_{30}H_{48}$

Этот класс терпенов широко распространен в природе. Известно около 200 различных тритерпенов. Классификация данных соединений проводится по числу колец в структуре тритерпенов.

Дополнительно выделяют два главных класса тритерпенов:

- стероидные: тетрациклические тритерпеноиды и сапонины (содержат углеводы). Примерами являются гормон тестостерон и простейший стероид три-терпенового ряда - холестерин (рис. 3.7);
- пентациклические (бетулин).

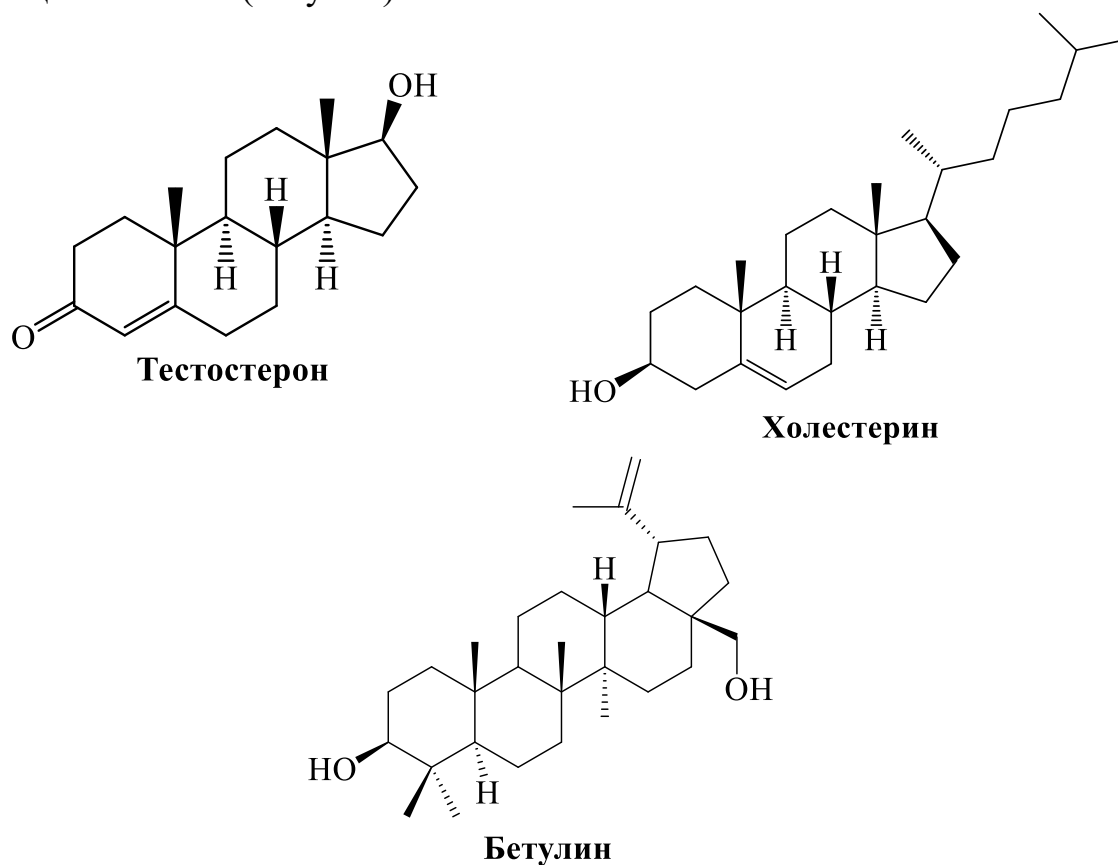


Рис. 3.7. Строение тритерпенов

Тетратерпены $C_{40}H_{64}$

Одной из групп тетратерпенов являются каротиноиды, которые представляют собой семейство соединений (более 600) с большим структурным разнообразием. Каротиноиды подразделяются на каротины, ксантофиллы и ликопин. Они синтезируются растениями, микроорганизмами и водорослями. Каротиноиды придают желтую, оранжевую или красную окраску плодам, листьям и цветам. Каротины и ксантофиллы (фукоксантин и неоксантин) окрашены в желтый цвет и содержатся в большом количестве в зеленых овощах. Ликопин представляет собой липофильный красный пигмент, присутствующий в спелых томатах. Лютеин придает желтый цвет листьям, цветкам, плодам и почкам высших растений. Оранжевый цвет моркови вызван β -каротином. Капсантин является красным пигментом перца. Розовая/красная окраска ракообразных обусловлена веществом астаксантином (ASTA).

Большинство каротиноидов состоят из центральной углеродной цепи чередующихся одинарных и двойных связей и имеют различные циклические или ациклические концевые группы (рис. 3.8).

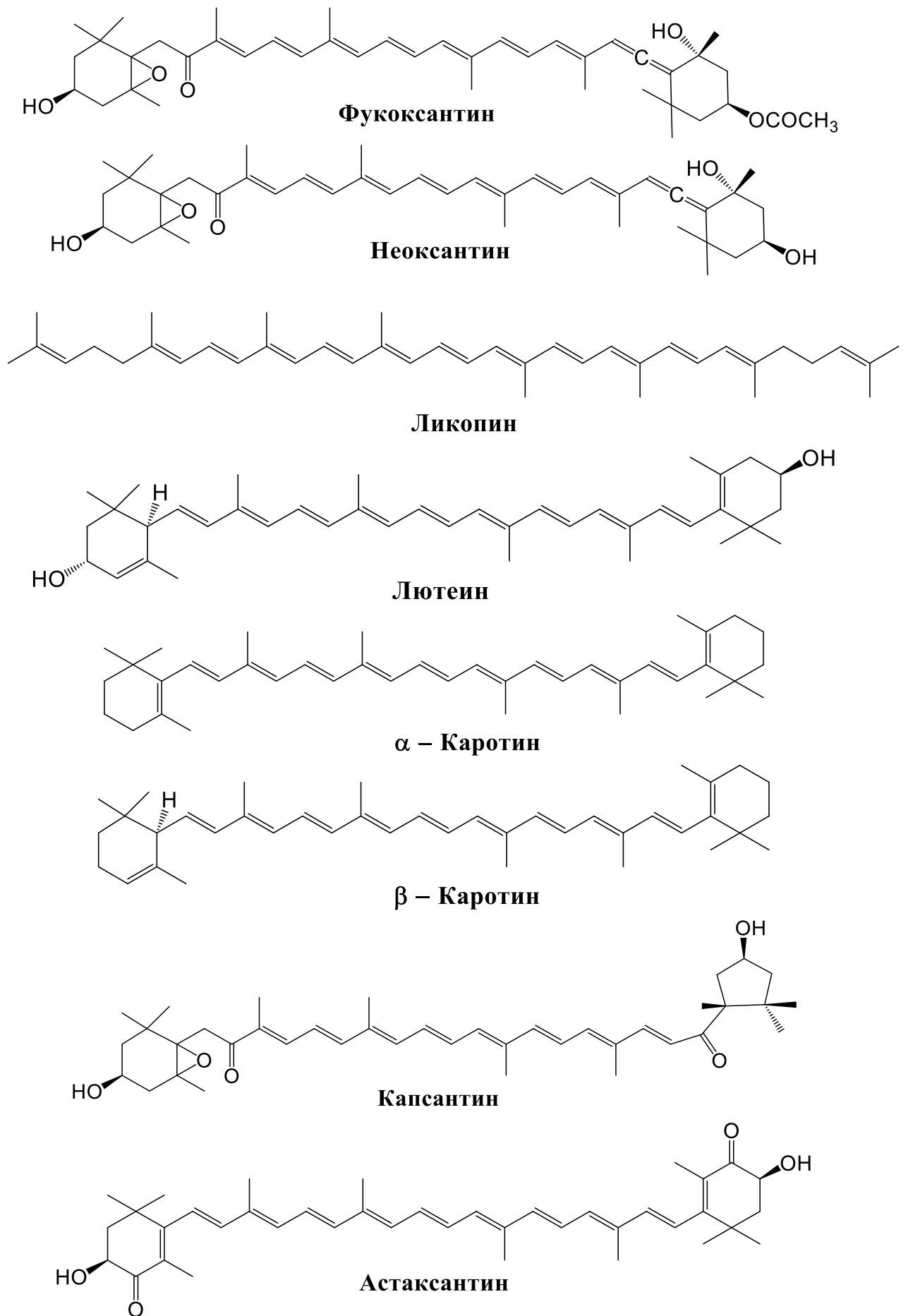


Рис. 3.8. Структура каротиноидов

Каротиноиды выполняют важные биологические функции: они участвуют в фотосинтезе, синтезе растительных гормонов, являются антиоксидантами и структурными компонентами мембран клеток.

Эти соединения имеют коммерческое применение в качестве пищевых красителей (например, фукоксантин) и пищевых добавок для животных. Они применяются в производстве фармацевтических препаратов.

Лабораторная работа 3.1. Качественное определение холестерина в пищевых продуктах

Цель работы

Изучение методов качественного определения холестерина в пищевых продуктах.

Теоретическое введение

Стерины – это высокомолекулярные циклические спирты, в основе строения которых лежит ядро циклопентанпергидро-фенантрена (стерана или гонана, рис. 3.9).

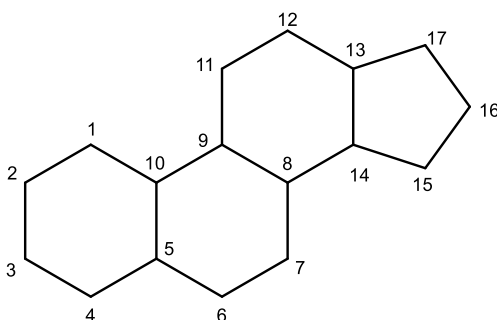


Рис. 3.9. Строение циклопентанпергидрофенантрена

Одним из наиболее распространенных стероидов является холестерин - вторичный высокомолекулярный циклический спирт (рис. 3.7).

Холестерин содержится в больших количествах в животных жирах. Он играет важную роль в процессах жизнедеятельности человека, т.к. является предшественником в синтезе стероидных гормонов. Избыток холестерина в организме приводит к образованию холестериновых бляшек и развитию атеросклероза.

Оборудование и реактивы

Растворитель для экстракции (хлороформ), фильтровальная бумага, яичный желток, грецкий орех, стаканы на 100 мл (4 шт.), мерный цилиндр, аналитические весы, блендер, защитные очки, резиновые перчатки, пробирки.

Ход работы

1. Экстракция липидов из пищевого сырья

Отмеряют 5 г яичного желтка или грецкого ореха, предварительно освобожденного от скорлупы и измельченного, в химический стакан с известной массой. Записывают общую массу. Добавляют 10 мл хлороформа и перемешивают в течение 5 – 10 мин. Затем аккуратно декантируют растворитель в другой химический стакан с известной массой. К оставшейся части добавляют 10 мл хлороформа и повторяют процедуру 3 – 4 раза. Затем полученный экстракт концентрируют с помощью роторного испарителя при температуре 50 °С под вакуумом.

2. Реакция Сальковского. Под действием концентрированной серной кислоты происходит дегидратация молекулы холестерина с образованием соединения, окрашенного в красный цвет (схема 3.10). В пробирку вносят 1 мл экстракта и затем к нему аккуратно по стенке приливают аналогичное количество концентрированной серной кислоты. Пробирку оставляют на 15 мин. Если в исследуемом образце содержался холестерин, в месте контакта должно образоваться красное кольцо.

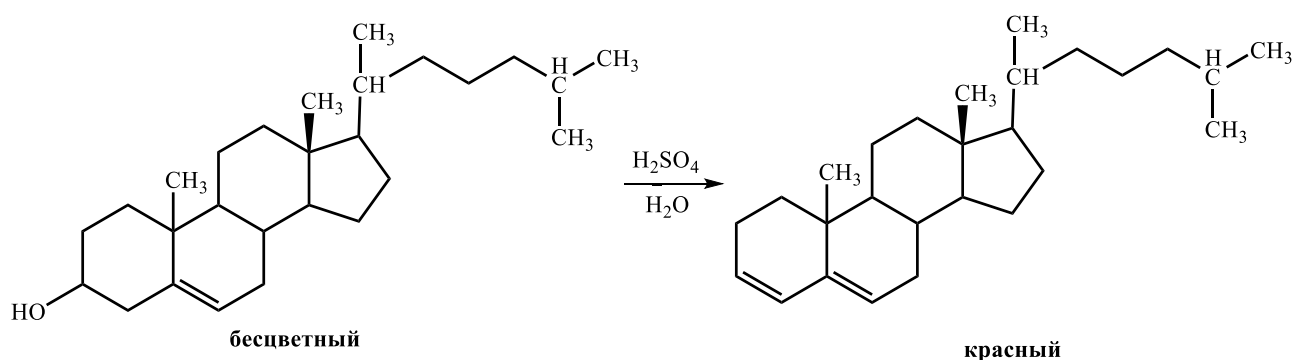


Схема 3.10. Дегидратация холестерина серной кислотой

Полученную в результате предыдущего эксперимента смесь перемешивают стеклянной палочкой и дают ей расслоиться на два слоя, один из которых окрашен в ярко-красный, а второй – в жёлто-оранжевый цвет.

3. Реакция Либермана - Бурхарда

При реакции холестерина с уксусным ангидридом и серной кислотой образуются сульфокислоты холестерилена сине-зеленого или зеленого цвета.

В пробирку наливают 2 – 3 мл хлороформного раствора холестерина или растительного масла, прибавляют 10 капель уксусного ангидрида и наливают по стенке 2 – 3 капли концентрированной серной кислоты. Через 5 – 8 мин появляется сначала красное, затем сине-зелёное и зелёное окрашивания.

Лабораторная работа 3.2. Получение бетулина из березовой коры

Цель работы

Изучение методов получения бетулина и его свойствами.

Теоретическое введение

Бетулин (от лат. *betula* - береза) представляет собой пентациклический тритерпен (рис. 3.7). В большом количестве бетулин содержится во внешней коре березы. Бетулин оказывает противогрибковое и антимикробное действие. Он обладает противовоспалительным, противовирусным (в том числе анти-ВИЧ), гепатопротекторным, гастропротекторным, антипролиферативным и противораковым свойствами. Бетулин замедляет биосинтез холестерина и жирных кислот и таким образом препятствует ожирению и образованию атеросклеротических бляшек. Бетулин увеличивает чувствительность клеток к инсулину, благодаря этому его можно использовать для лечения диабета типа II.

Оборудование и реактивы

Круглодонная колба 500 мл, обратный холодильник, воронка Бюхнера, фильтр, коническая колба 250 мл, гидроксид калия или натрия, этиловый или изопропиловый спирты, береста.

Ход работы

В круглодонную одногорлую колбу объемом 250 мл с обратным холодильником загружают 5 г измельченной (от 1 до 5 мм) бересты, 50 мл дистиллированной воды, 2,5 г щелочи и кипятят в течение 30 мин. Затем колбу охлаждают до 50 °С, прибавляют 50 мл этилового (изопропилового) спирта и кипятят еще в течение 30 мин. Горячую реакционную массу фильтруют на воронке Бюхнера. Фильтрат переносят в колбу с прямым холодильником и отгоняют спирт. После отгонки спирта в колбе выпадают в осадок белые кристаллы бетулина. Осадок отфильтровывают и промывают горячей водой до нейтральной реакции. Сушат при комнатной температуре. После высушивания определяют массу и выход бетулина-сырца. Дополнительную очистку бетулина проводят перекристаллизацией из этилового или изопропилового спирта. Температура плавления чистого бетулина 258 – 260 °С.

Контрольные вопросы

1. Терпены: классификация, строение.
2. Приведите примеры терпенов разных классов.
3. Назовите основные источники терпенов.
4. Назовите основные свойства и области применения каждого класса терпенов.
5. Какие терпены придают окраску растениям?
6. К какому классу терпенов относится холестерин?
7. Методы выделения холестерина из животного сырья.
8. Типы качественных реакций, используемых для обнаружения холестерина в сырье.
9. Методы выделения бетулина из растительного сырья.

4. Витамины

Витамины являются незаменимыми питательными веществами. Они играют ключевую роль во многих жизненно важных процессах и необходимы для нормального функционирования организма человека. В настоящее время известно, что витамины могут играть значительную роль в профилактике и лечении рака. Недостаток и избыток витаминов способен приводить к различным заболеваниям. Каждый человек должен ежедневно получать с пищей все необходимые витамины. Сохранение витаминов в продуктах питания зависит от кулинарной обработки пищи, условий и продолжительности ее хранения. Основным источником витаминов для человека является животное и растительное сырье. Если имеется недостаток витаминов, можно принимать препараты витаминов по рекомендации врача.

В зависимости от растворимости витамины подразделяют на водо- (витамины С, В₁, В₂, В₃ (РР), В₆, В₁₂, фолиевая кислота, пантотеновая кислота и биотин) и жирорастворимые (витамины А, Д, Е и К).

Лабораторная работа 4.1. Определение содержания витамина В₁₂

в лекарственных препаратах

Цель работы

Изучение методов определения содержания витамина В₁₂ в лекарственных препаратах.

Теоретическое введение

Витамин В₁₂ – это группа кобальтсодержащих биологически активных веществ, называемых кобаламинами. Структура витамина В₁₂ отличается от

строения всех других витаминов своей сложностью и наличием в его молекуле иона металла – кобальта (рис. 4.1).

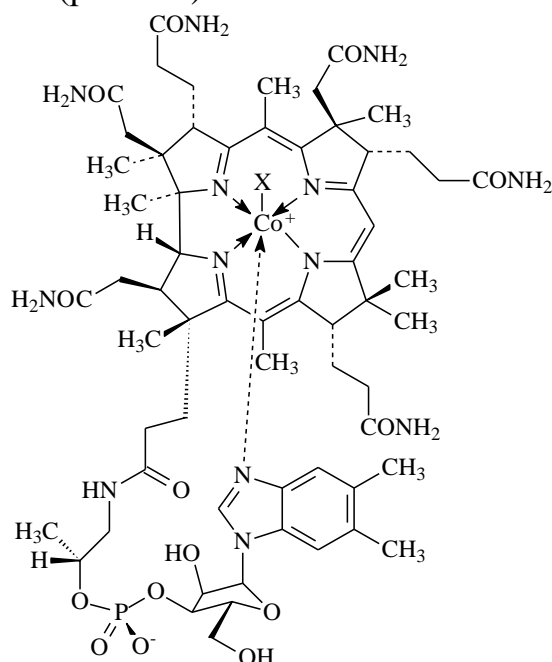


Рис. 4.1. Структура витамина В₁₂

В зависимости от типа заместителя X различают несколько форм витамина В₁₂: цианокобаламин (X = CN), гидроксокобаламин (X = OH), аквакобаламин (X = H₂O), 5'-дезоксаденозилкобаламин, метилкобаламин (X = CH₃).

Витамин В₁₂, в отличие от других витаминов, поступает в организм человека только с животной пищей (мясо, печень, рыба, яйца, молоко, сыр). В этих продуктах питания витамин В₁₂ связан с белками и высвобождается под действием соляной кислоты и пепсина в желудке.

Таблица 4.1. Содержание витамина В₁₂ в некоторых продуктах питания

Наименование продукта	Содержание витамина В ₁₂ , мкг/100 гр. продукта
Морепродукты:	
- Сельдь	13
- Мидии	12
Злаковые культуры, бобы, семена	Эта группа продуктов содержит в следовых количествах витамин В ₁₂ и не может рассматриваться как его источник
Мясо и мясопродукты:	
- Курица	1
- Говядина	1,5-6
- Печень	26 - 60
Молоко и молочные продукты:	
- Молоко	0,4
- Сыры	1 - 2
- Йогурт	0,4 - 0,7

Суточная потребность в витамине В₁₂ составляет 2,4 мкг. Недостаток витамина В₁₂ может привести к различным заболеваниям (неврологические расстройства, злокачественная анемия).

Витамин В₁₂ синтезируется только микроорганизмами. Микробная ферментация, в которой преимущественно используются микроорганизмы *Pseudomonas denitrificans*, *Propionibacterium shermanii* или *Sinorhizobium meliloti*, применяется для промышленного производства витамина В₁₂. Полученный витамин В₁₂ требует дополнительной очистки с помощью колоночной хроматографии на сорбенте силикагеле. Указанный сорбент является макропористым кремнеземом, в основном состоит из чистого SiO₂. Особенностью поверхности макропористых кремнеземов является наличие на ней силанольных =SiO и силоксановых =Si-O-Si= групп. Эти группы - основные адсорбционные центры поверхности кремнеземов. Изоэлектрическая точка кремнезема находится около рН = 1,5 - 2. При рН > 2 поверхность кремнезема заряжена положительно.

Выделенный в чистом виде витамин В₁₂ в форме цианокобаламина используется в медицинской и пищевой промышленности.

Различные методы используют для определения содержания витамина В₁₂ в исследуемых образцах. Водный раствор витамина В₁₂ окрашен в красный цвет. Электронный спектр поглощения водного раствора витамина В₁₂ имеет максимумы поглощения при длинах волн: 278, 361 и 550 нм. Закон Бугера – Ламберта – Бера соблюдается в широком диапазоне концентраций витамина В₁₂. Это позволяет определять содержание витамина В₁₂ спектрофотометрическим методом.

Оборудование и реактивы

Лекарственный препарат (модельный раствор) цианокобаламина (500 мкг/мл), 20 %-й раствор ацетона в 0,1 н. Н₂SO₄, 0,5 н. раствор аммиака, 2,5 %-й фосфатный буфер, химический стакан 25 мл (3 шт), силикагель, дистиллированная вода, пипетки 1, 5, 10 мл, стеклянная колонка (диаметр 1 см, высота 20 см) спектрофотометр Cary 50 (или его аналог), кювета толщиной 1 см.

Ход работы

Очистка витамина В₁₂ с помощью молекулярных сорбентов. Через колонку, загруженную минеральным молекулярным сорбентом (силикагель, 5 г) пропускают сверху вниз 1,5 мл (V₁) исходного модельного раствора витамина В₁₂ с концентрацией 500 мкг/мл. После пропускания исходного раствора витамина В₁₂ сорбент промывают дистиллированной водой и наблюдают за перемещением окрашенных веществ вдоль колонки. Сначала из колонки вымываются примеси бледно-розового цвета, после выхода балластных компонентов растворы на выходе становятся бесцветными, затем начинает десорбироваться

цианкобаламин. В верхней части слоя сорбента остается сорбированным гидроксокобаламин и некоторые примеси - при промывке очищенной водой они практически не движутся по колонке. Каждую окрашенную фракцию собирают в отдельный стакан.

После полной десорбции цианкобаламина проводят регенерацию силикагеля, пропуская последовательно следующие растворы в количестве 1 объем на 1 объем сорбента:

- 20 %-й ацетон в 0,1 н. H_2SO_4 - 10 мл;
- Очищенная вода - 10 мл;
- 0,5 н. раствор аммиака - 10 мл
- Очищенная вода - 10 мл;
- 2,5 %-й фосфатный буфер - 2 объема на объем сорбента - 20 мл;
- Очищенная вода - 10 мл.

При регенерации все вещества, оставшиеся в верхней части хроматографической колонки, удаляются.

Замеряют объем фракции, содержащий цианкобаламин. При необходимости водный раствор цианкобаламина предварительно концентрируют на роторном вакуумном испарителе при 60 °С до объема 3 - 5 мл (V_2 , мл).

Количественное определение цианкобаламина проводят на спектрофотометре. Оптическую плотность растворов цианкобаламина определяют при длине волны 361 нм в кювете толщиной 1 см. В кювету отбирают 2 мл (V_3) анализируемого раствора витамина B_{12} и измеряют значение оптической плотности. Если оптическая плотность анализируемого образца выше единицы, анализируемую пробу предварительно разбавляют в отдельном химическом стакане и записывают общий объем (V_4 , мл). Повторяют измерение.

Количество цианкобаламина рассчитывают по формуле (4.1):

$$m = \frac{A \cdot M \cdot V_2}{E^{361} \cdot 1000} P, \text{ где} \quad 4.1$$

m – количество цианкобаламина в растворе, после хроматографии, (г), A – оптическая плотность при длине волны 361 нм, M - молекулярная масса цианкобаламина (1355 г/моль), V_2 – общий объем раствора цианкобаламина после хроматографии, E^{361} – коэффициент экстинкции цианкобаламина при длине волны 361 нм, P – коэффициент разбавления, рассчитывается как соотношение V_4/V_3 .

Полученные результаты сравнивают с теоретическим и делают выводы.

Контрольные вопросы

1. Назовите основные источники витаминов.
2. Какие микроорганизмы используют для получения витамина В₁₂?
3. Какие сорбенты используют для получения витамина В₁₂ в чистом виде?
4. Как определить концентрацию витамина В₁₂ в растворе?

5. Флавоноиды

Флавоноиды – это группа природных полифенольных соединений. В основе молекулы флавоноидов лежит дифенилпропановый скелет (С₆С₃С₆) (рис. 5.1).

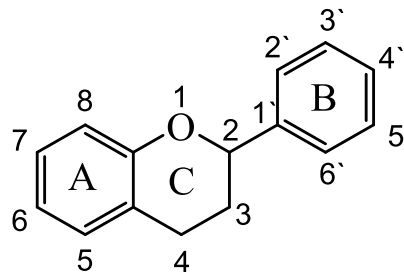


Рис. 5.1. Структура дифенилпропанового (С₆С₃С₆) скелета

Флавоноиды подразделяют на следующие группы в зависимости от типа и положения заместителей в структуре дифенилпропанового скелета: флавонолы, флаванолы, антоцианы, изофлавоноиды, флаваноны и флавоны

Основным источником флавоноидов являются растения. Флаваноны и флавоны содержатся в одних и тех же растениях, в частности, фруктах, в которых находятся в связанном состоянии с ферментами, в то время как флавоны и флавонолы редко встречаются вместе в одном растении. Антоцианы отсутствуют в растениях, богатых флаванонами.

Роль флавоноидов в растениях, животных и бактериях важна и многообразна. Известно, что флавоноиды синтезируются в определенных частях растений и отвечают за их цвет и аромат. Яркая окраска фруктов привлекает внимание птиц и других животных, которые разносят семена растений на большие расстояния, что способствует их воспроизведению и распространению на новые территории. Флавоноиды защищают растения от различных биотических и абиотических стрессов и выступают в качестве УФ-фильтров. Флавоноиды также выступают в роли сигнальных молекул, аллопатических соединений, фитоалексинов, детоксифицирующих агентов и антимикробных защитных соединений. Флавоноиды способствуют повышению морозостойкости, устойчивости к засухе и акклиматизации растений.

В настоящее время известно около 6000 флавоноидов, придающих окраску фруктам, травам, овощам и лекарственным растениям.

Флавоноиды оказывают положительное влияние на здоровье человека и животных. Они обладают антиоксидантными, противовоспалительными, капилляроукрепляющими, желчегонными, противоопухолевыми, иммуномоделирующими и другими лечебными свойствами. Благодаря этим свойствам они широко используются в производстве лекарственных препаратов.

Антиоксидантные свойства флавоноидам придают фенольные гидроксильные группы, связанные с кольцами А, В, С (рис. 5.1). Флавоноиды обладают восстановительными свойствами и являются инактиваторами синглетного кислорода, супероксида. Они также активируют антиоксидантные ферменты, снижают количество образующихся радикалов α -токоферола (препятствуют окислению витамина Е), ингибируют оксидазы, смягчают нитрозативный стресс, а также понижают содержание мочевой кислоты.

Рассмотрим свойства групп флавоноидов.

Флавонолы - это флавоноиды, имеющие кетогруппу. Флавонолы содержат гидроксильную группу в кольце С, которая также может быть связана с углеводами. Флавонолы содержатся в больших количествах во фруктах, овощах, а также чае и красном вине. Флавонолы оказывают положительное влияние на здоровье человека благодаря высокому антиоксидантному эффекту и снижению риска возникновения сосудистых заболеваний. Наиболее изученными флавонолами являются кемпферол и кверцетин (рис. 5.2).

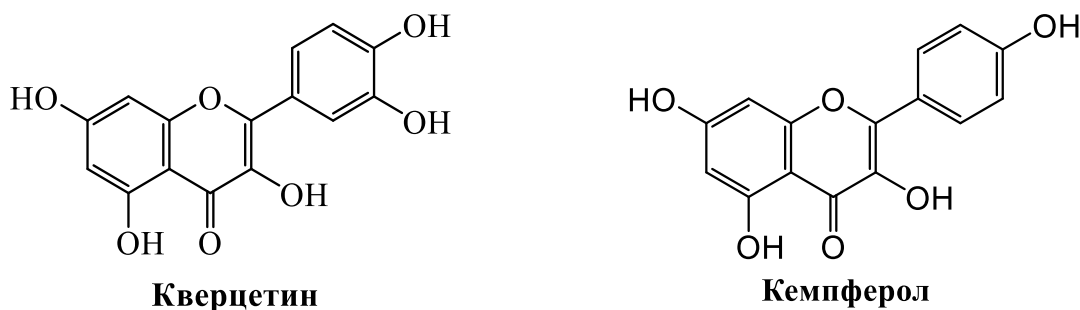


Рис. 5.2. Строение флавонолов

Кверцетин содержится во многих продуктах питания из растительного сырья. Он содержится во фруктах и овощах, но наибольшее его количество обнаружено в яблоках и луке. Как и многие другие флавоноиды, кверцетин обладает антиоксидантными, антиатерогенными (уменьшающими риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы) и антиканцерогенными свойствами.

Кемпферол - это природный флавонол, он содержится во многих растениях и продуктах растительного происхождения. Кемпферол обладает антиоксидантными свойствами и уменьшает окислительный стресс. Употребление кемпферола помогает снизить риск возникновения различных видов рака. Кемпферол и его глюкозид получают химическим способом из листьев папоротника.

Флаванолы (дигидрофлавонолы или катехины). Их также называют флаван-3-олами, поскольку гидроксильная группа всегда находится в третьем положении кольца С и между позициями 2 и 3 нет двойной связи. Флаванолы в большом количестве содержатся в бананах, яблоках, чернике, персиках и грушах. Важным представителем данной группы является катехин (рис. 5.3).

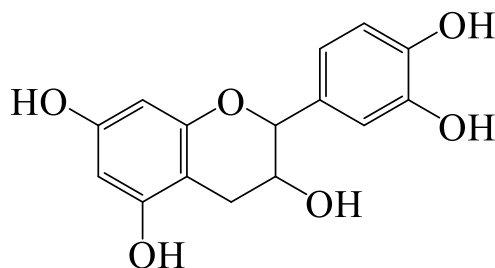


Рис. 5.3. Строение катехина

Катехин впервые был выделен из экстракта акации катеху. Он также содержится в растениях, фруктах и ягодах (яблоках, чернике, крыжовнике, киви, клубнике), зеленом чае, красном вине, пиве, шоколаде, какао. Доказано, что потребление зеленого чая, богатого катехином, положительно влияет на сердечно-сосудистую систему. Клинические исследования показали, что положительный эффект катехина достигается благодаря его антиоксидантному, антигипертензивному, противовоспалительному, антипролиферативному, антитромбогенному и антигиперлипидемическому действию.

Флавоны - содержат двойную связь между положениями 2 и 3 и кетогруппу в положении 4 кольца С. К этому подклассу флавоноидов относятся хризин, лютеолин, апигенин (рис. 5.4). Флавоны содержатся в листьях, цветах и плодах в виде глюкозидов. Основными источниками флавонов являются сельдерей, петрушка, красный перец, ромашка, миндаль и гинкго билоба.

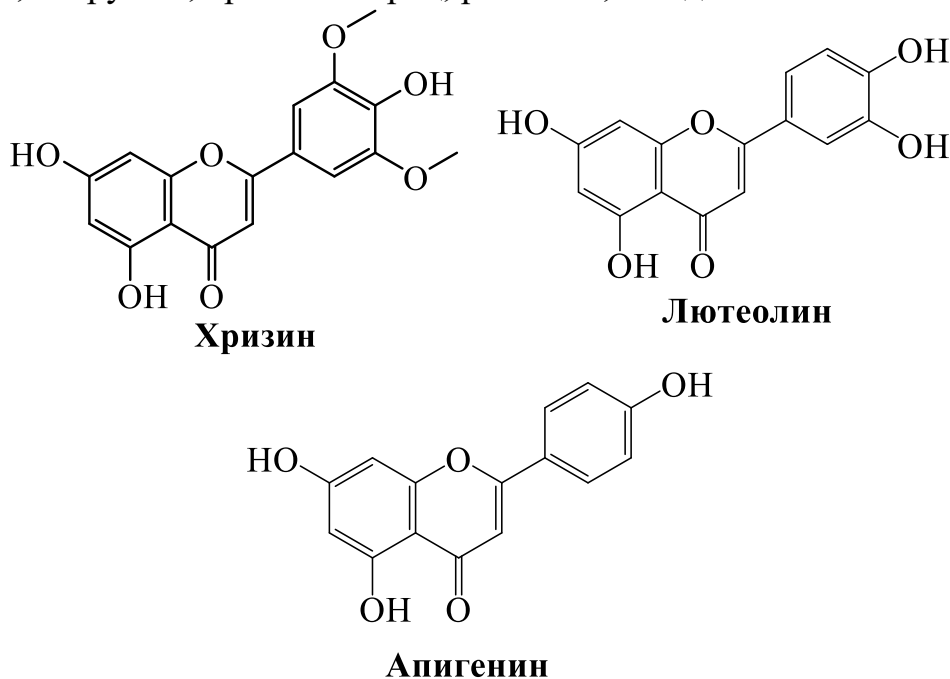


Рис. 5.4. Строение флавонов

Хризин (5,7-дигидроксифлавоон) представляет собой флавоон, содержащийся в меде, прополисе, страстоцвете мясо-красном, страстоцвете голубом. Его выделяют химическим путем из пассифлоры голубой.

Лютеолин (3',4',5,7 - тетрагидроксифлавоон) является распространенным флавоноидом, широко представленным в растениях - брокколи, перце, тимьяне и сельдерее. Растения, богатые лютеолином, используются в традиционной китайской медицине для лечения различных заболеваний, таких как гипертония, воспалительные заболевания и рак. Лютеолин обладает полезным нейрозащитным эффектом, антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами.

Апигенин (4',5,7 - тригидроксифлавоон) содержится во фруктах и овощах в больших количествах. Этот флавоноид проявляет противовоспалительный и антиоксидантный эффекты. Апигенин и лютеолин являются одними из наиболее мощных соединений, ингибирующих выработку в клетках воспалительных цитокинов.

Кожица цитрусовых богата полиметоксилированными флавонами: тагеретином, нобилетином и синенсетином. Большинство флавонов, входящих в состав овощей и фруктов, дополнительно содержат гидроксильную группу в положении 5 кольца А.

Флаваноны (дигидрофлавоны) - еще одна важная группа соединений, которые обычно присутствуют во всех цитрусовых и винограде. В отличие от флавонов, кольцо С в структуре флаванонов является насыщенным (отсутствует двойная связь между позициями 2 и 3).

Примерами этого класса флавоноидов являются гесперитин, нарингенин и эриодиктиол (рис. 5.5).

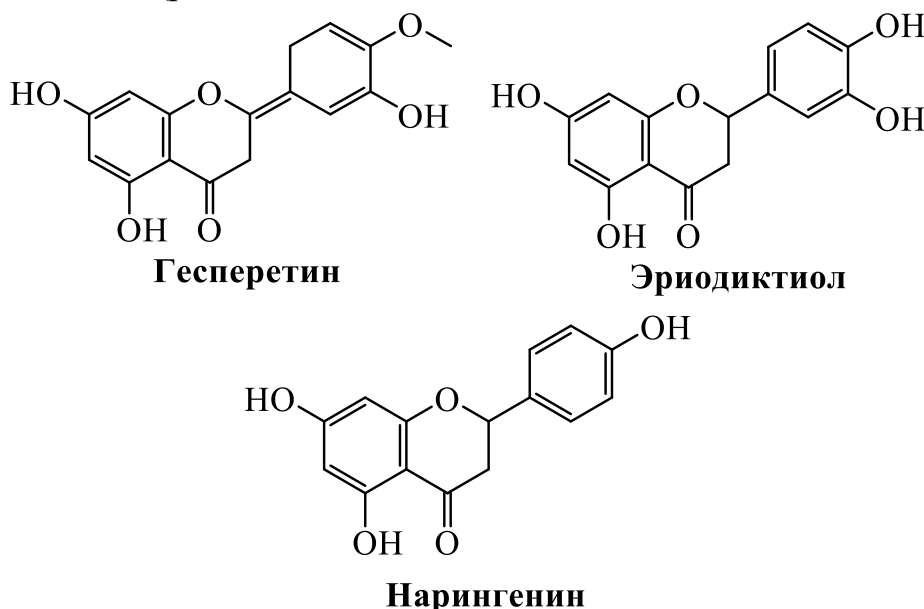


Рис. 5.5. Строение флаванонов

Флавононы оказывают положительное воздействие на здоровье человека. Флавоноиды цитрусовых выступают в качестве антиоксидантов, противовоспалительных, гиполипидемических и холестеринных агентов. Эти соединения придают горький вкус соку и коже цитрусовых.

Изофлавоноиды являются большой и особой подгруппой флавоноидов. В отличие от других флавоноидов, изофлавоноиды обладают 3-фенилхромен-4-оновым скелетом. Изофлавоноиды ограниченно распространены в природе и встречаются преимущественно в соевых бобах и другие бобовых растениях. Они используются растениями для синтеза фитоалексинов, которые подавляют развитие вредных микроорганизмов и предотвращают распространение инфекции в растении и его гибель. К изофлавоноидам относятся генистеин и даидзеин (рис. 5.6).

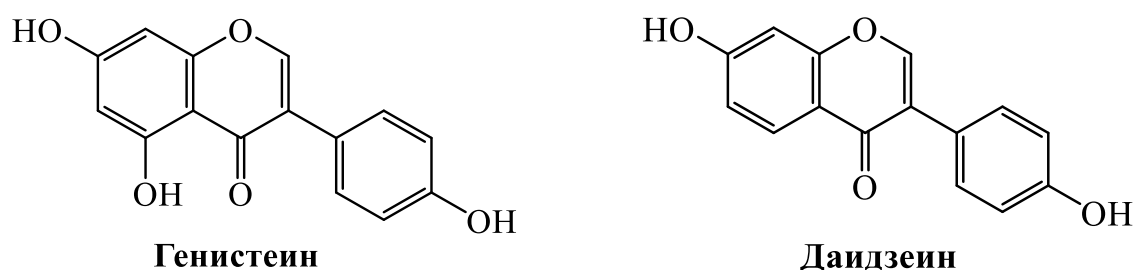
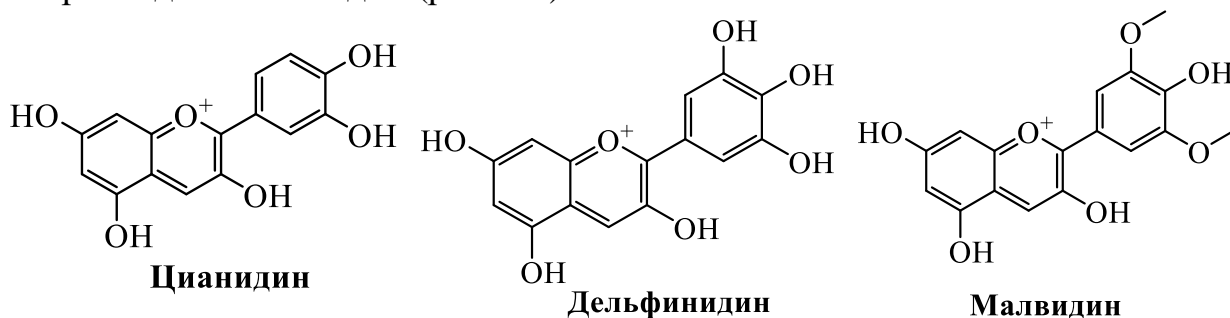


Рис. 5.6. Строение изофлавоноидов

Они могут использоваться для лечения целого ряда болезней и действуют как антиоксидантные и антигельминтные препараты. Благодаря структурному сходству с гормонами эстрогенами в клетках животных и человека они могут взаимодействовать с эстрогеновыми рецепторами, что приводит к эффектам, сходным с гормональными эффектами эстрогенов.

Антоцианы являются гликозидами, содержащими в качестве агликона-антоцианидина гидрокси- и метоксизамещённые соли флавилия (2-фенилхроменилия), у некоторых антоцианов гидроксилы ацетилированы. Углеводная часть связана с агликоном обычно в положении 3, у некоторых антоцианов — в положениях 3 и 5, при этом в роли углеводного остатка могут выступать как моносахариды (глюкоза, рамноза, галактоза), так и ди- и трисахариды. Будучи солями, антоцианы легко растворимы в воде и полярных растворителях, мало растворимы в спирте и нерастворимы в неполярных растворителях. Наиболее изученными антоцианинами являются цианидин, дельфинидин, мальвидин, пеларгонидин и пеонидин (рис. 5.7).



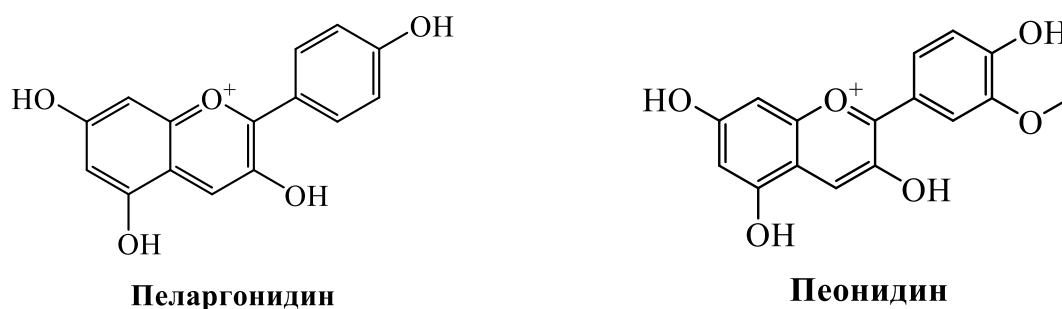


Рис. 5.7. Структура антоцианов

Антоцианы содержатся в клюкве, черной смородине, красном винограде, малине, клубнике, чернике, ежевике.

Антоцианины оказывают гепатозащитное и гепатотропное действие на печень благодаря своим сильным антиоксидантным свойствам. Они уменьшают накопление гепатоцеллюлярных липидов и могут применяться в профилактике неалкогольной жировой болезни печени за счет стимуляции липолиза, ингибирования липогенеза и индукции антиоксидантных ферментов. Благодаря стабильности и пользе для здоровья человека, антоциановые соединения широко используются в пищевой промышленности в качестве пищевых добавок.

В природе также широко встречаются производные флавоноидов: халконы и ауруны.

Основным отличием халконов является отсутствие кольца C. Благодаря такой структуре халконы также называют флавоноидами с открытой цепью. К халконам относятся флоридзин, арбутин, флоретин (рис. 5.8).

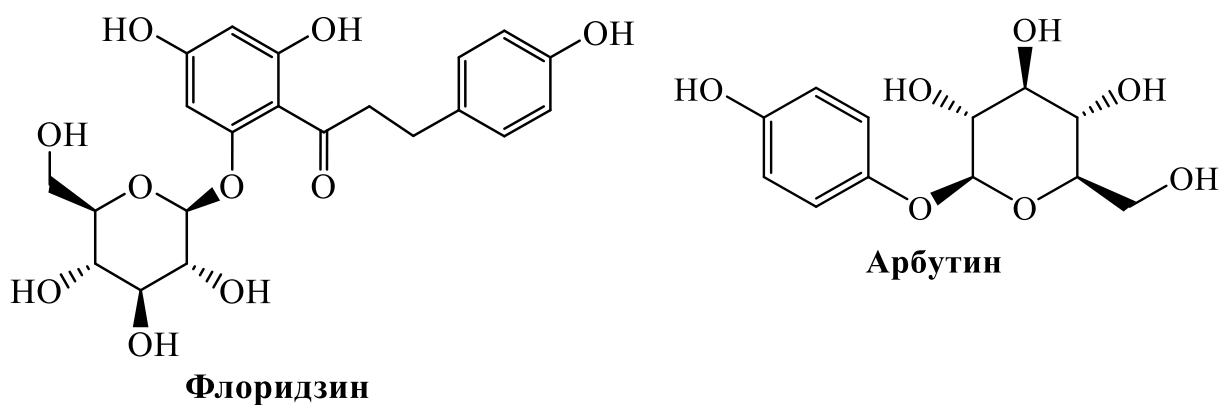


Рис. 5.8. Структура некоторых халконов

В значительных количествах халконы содержатся в томатах, грушах, клубнике, толокнянке.

Ауруны – это группа флавоноидных соединений с пятичленным фурановым кольцом С (рис. 5.9), которые придают желтую окраску цветам некоторых популярных декоративных растений, таких как Львиный зев и Космея.

Ауруны образуются из халконов под действием фермента халконазы. Ауруны в большом количестве содержатся в основном в растениях семейства астровых, бобовых и норичниковых. К аурунам относятся сульфуретин, ауреузидин, лептозидин, маритиметин (рис. 5.9).

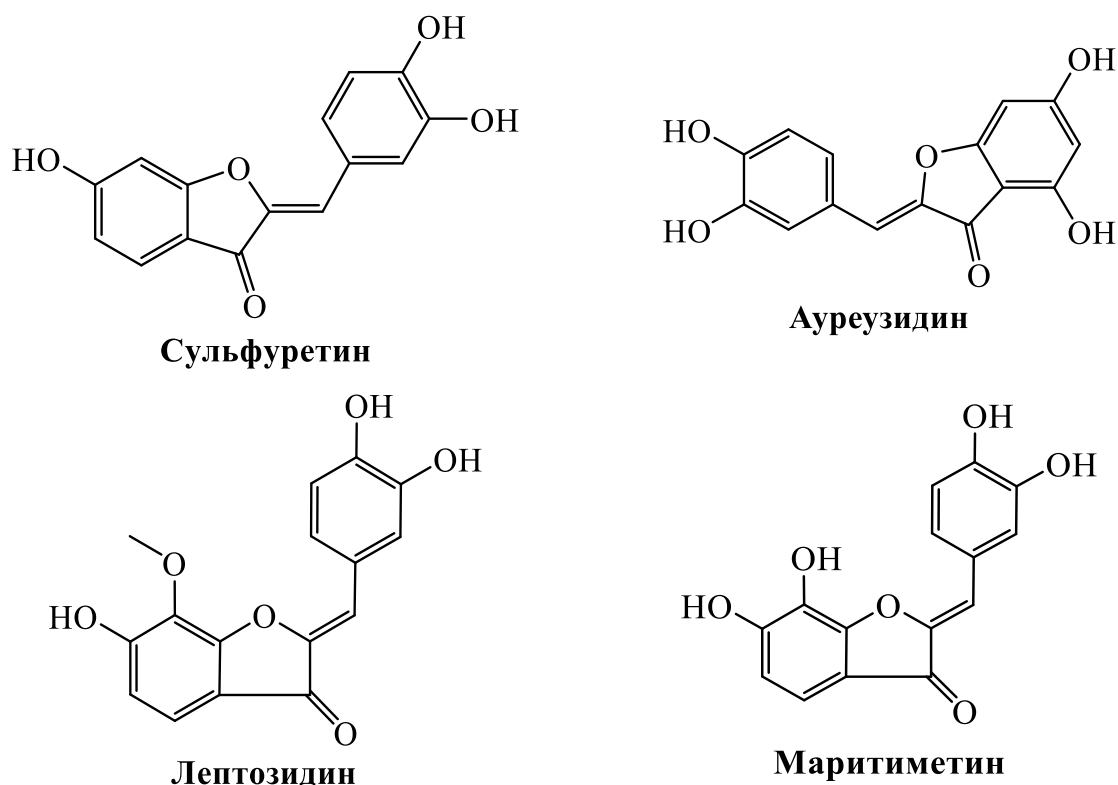


Рис. 5.9. Строение аурунов

Лабораторная работа 5.1. Выделение флавоноидов из апельсина

Цель работы

Изучение методов извлечения флавоноидов из растительного сырья и исследование свойств флавоноидов.

Теоретическое введение

Главным источником флавоноидов, используемых для производства лекарств и биологически активных добавок, являются растения. Наиболее эф-

эффективным способом извлечения флавоноидов является экстракция. Этот способ не является селективным. Экстракты содержат смесь различных флавоноидов и большое количество побочных веществ (углеводов, кислот, аминокислот и белков), которые необходимо удалить. Анализ состава, дополнительную очистку экстракта и выделение индивидуальных флавоноидов проводят с использованием хроматографии. Часто для аналитических целей используются бумажная и тонкослойная хроматография на силикагеле. Пример хроматограммы экстракта, содержащего флавоноиды, представлен на рис. 5.10.

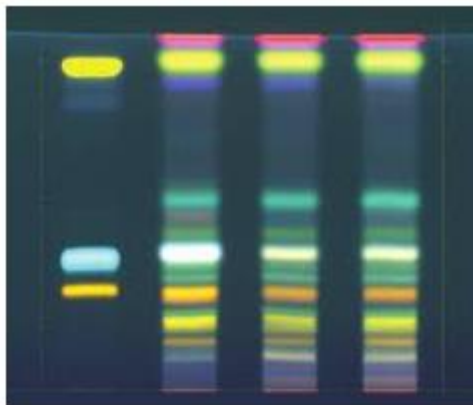
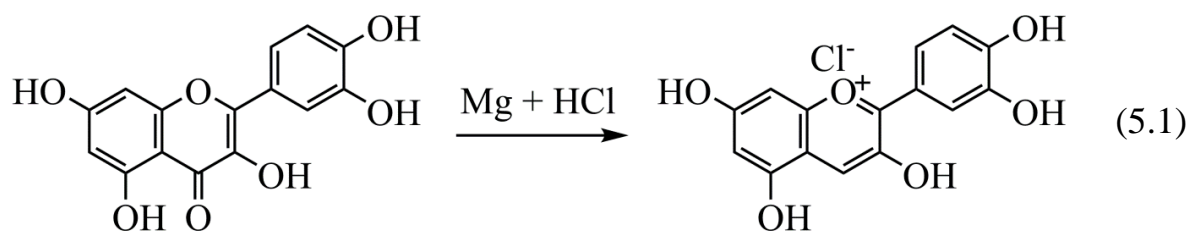


Рис. 5.10. Пример хроматограммы (УФ-свет, проявитель – AlCl_3). Примечание: каждая вертикальная линия, соответствует флавоноиду с определенной структурой.

Качественное определение флавоноидов.

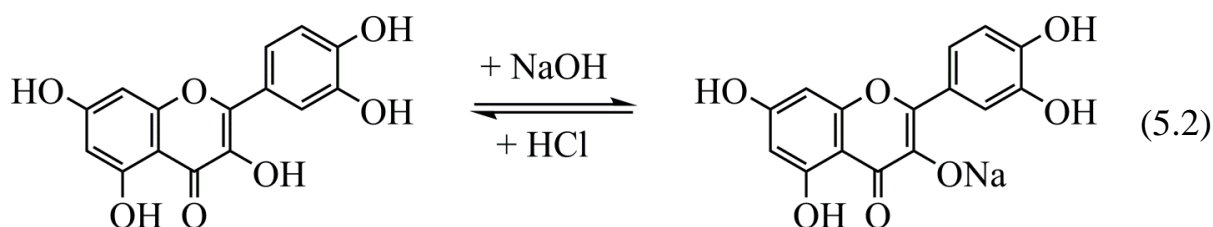
Тест - реакция Шимоды

Тест основан на восстановлении флавоноидов до антоцианов (реакция 5.1):



В качестве восстановителя используется магний. Об образовании антоцианов и наличии флавоноидов судят по появлению розового окрашивания раствора. Вместо магния можно использовать цинк. В этом случае раствор окрашивается в красный цвет.

Реакция со щелочью. Флавоны, флавонолы, халконы, ауруны при обработке щелочью образуют натриевые соли (реакция 5.2), которые окрашивают раствор в желтый или оранжевый цвет:



Реакция с хлоридом железа (III). Флавоны, флавонолы, халконы, ауруны при взаимодействии с раствором хлорида железа (III) образуют окрашенные в зеленый или фиолетовый цвет комплексы (схема 5.1).

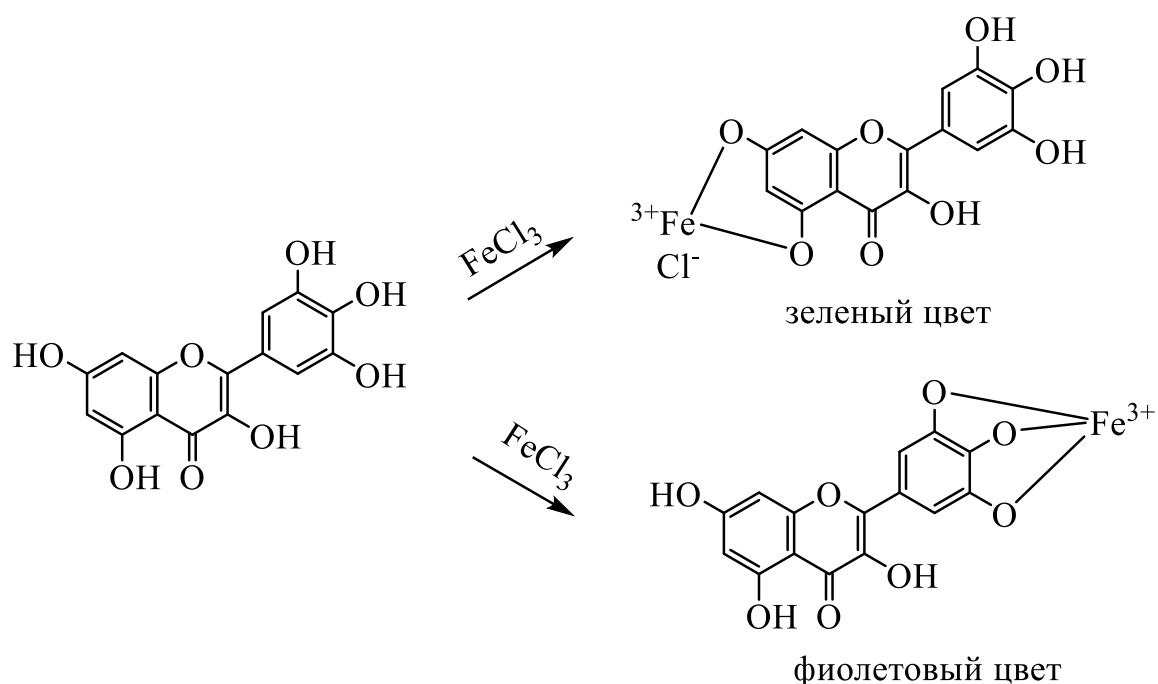


Схема. 5.1. Взаимодействие флавонов с хлоридом железа(III)

Количественное определение содержания флавоноидов проводят с использованием методов спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, гравиметрически, титрования, флуориметрически, полярографии.

Оборудование и реактивы

Установка для экстракции (рис. 5.11), колба круглодонная объёмом 50 мл, роторный вакуумный испаритель (рис. 5.12), ультразвуковая ванна, химический стакан, марля, этиловый спирт, сухие корки цитрусовых, хлороформ,

этилацетат, дистиллированная вода, концентрированная соляная кислота, магний, цинковая пыль, 2%-н этанольный раствор $AlCl_3$.

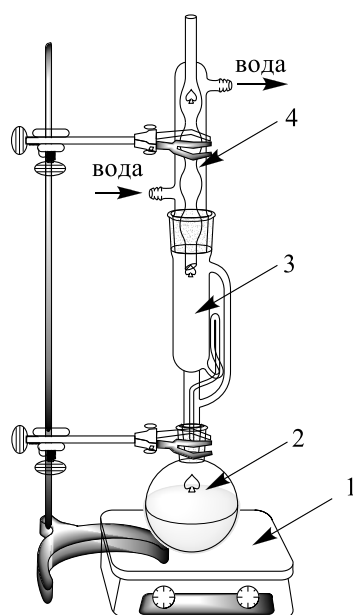


Рис. 5.11. Установка для непрерывной экстракции флавоноидов из растительного сырья: 1- электроплитка, 2- колба круглодонная объемом 250 мл, 3- аппарат Сокслета, 4-обратный холодильник

Роторный вакуумный испаритель (рис. 5.12) состоит:

- из стеклянной трубки со шлифом, к которой присоединяется круглодонная колба А (в эту колбу помещают исходный раствор);
- водяной бани В;
- электродвигателя С, который приводит колбу во вращение;
- обратного холодильника F, служит для охлаждения паров;
- колбы-приёмника G.

Для создания вакуума к обратному холодильнику сверху через специальный переходник подключается вакуумный насос. Кран Н служит для быстрого сброса вакуума в системе.

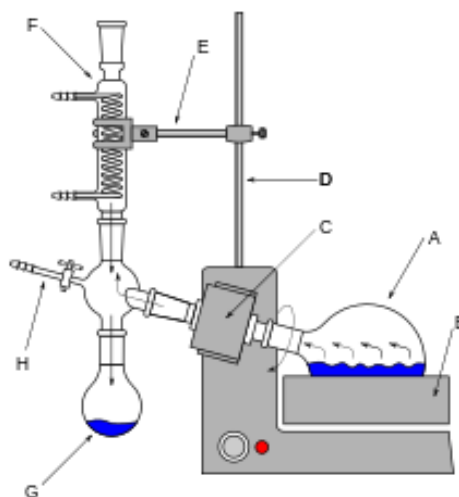


Рис. 5.12. Роторный вакуумный испаритель

Ход работы

1. Приготовление образца

Предварительно апельсиновые корки высушивают в сушильном шкафу при температуре 70 °С до постоянной массы. Затем сухие апельсиновые корки измельчают до порошкообразного состояния с помощью блендера. Навеску полученного порошка (0,5 г) запечатывают в конверт из фильтровальной бумаги и помещают в аппарат Сокслета. В круглодонную колбу наливают 100 мл этилового спирта, помещают фарфоровые кипелки или магнитную мешалку, собирают установку для непрерывной экстракции (рис. 5.11) и начинают экстракцию нагреванием колбы с этиловым спиртом. Процесс экстракции проводят в течение 1 часа с момента закипания растворителя. Полученный экстракт концентрируют на роторном вакуумном испарителе (под руководством преподавателя) при температуре 40 °С. Конечный объем экстракта должен составить 10 мл.

Альтернативным способом извлечения является настаивание образца в колбе при постоянном перемешивании при комнатной температуре. Для экстракции используется водно-спиртовой раствор соляной кислоты, приготовленный в следующих пропорциях: этиловый спирт : дистиллированная вода : соляная кислота (конц.) = 70:29.5:0.5 (по объему).

В круглодонную колбу объемом 50 мл помещают 0,5 г порошка (см. выше), добавляют 10 мл водно-спиртового раствора соляной кислоты и перемешивают с помощью магнитной мешалки при комнатной температуре в течение 1 часа. Вместо перемешивания может быть использовано воздействие ультразвуком. В этом случае колбу с образцом и растворителем помещают в ультразвуковую ванну, время выдержки 1 час при комнатной температуре. Затем раствор фильтруют. Полученный прозрачный экстракт используют для дальнейших экспериментов.

2. Бумажная хроматография

Из фильтровальной бумаги вырезают полоску 2,5 на 25 см. Отступают 1 см от узкого края полоски и проводят карандашом стартовую линию (нижний конец полоски). На стартовую линию с помощью дозатора или пипетки наносят 50 - 100 микролитров спиртового экстракта флавоноидов и высушивают с помощью фена для рук. Затем полоски закрепляют за верхний конец на стеклянной палочке и помещают вертикально в хроматографическую камеру (химический стакан). В камеру добавляют элюент, представляющий собой смесь бутанол : уксусная кислота : вода в соотношении 40:10:50 (по объему). Объем элюента в хроматографической камере подбирают таким образом, чтобы его уровень был ниже стартовой линии бумажной полоски.

Хроматографию ведут до тех пор, пока растворитель не поднимется на 15- 20 см от стартовой линии. Полоски затем удаляют из камеры и сушат на воздухе. Затем полоски опрыскиваются 2%-м этанольным раствором хлорида алюминия (III). Полоски облучают УФ-светом и записывают наблюдения.

Сравнивают полученную хроматограмму с хроматограммой, представленной на рис. 5.13.

$AlCl_3$ реагирует с флавоноидами с образованием комплексов. В ультрафиолетовом свете эти соединения окрашиваются в разные цвета: флавоны – в зеленый; флавонолы - в желтоватый или желтовато-зеленый; халконы – в коричнево-розовый; ауроны – в бледно-коричневый.

3. Тест Шимоды

В пробирку помещают 0,5 мл приготовленного экстракта, добавляют несколько небольших кусочков магния или цинковую пыль и прикапывают концентрированную соляную кислоту до появления розового (красного) окрашивания раствора.

4. Реакция с хлоридом железа (III)

В пробирку помещают 0,5 мл приготовленного экстракта и прикапывают 1%-й водный раствор $FeCl_3$. Наблюдают за цветом раствора и записывают результат.

На основании результатов всех экспериментов делают вывод по выполненной работе.

Контрольные вопросы

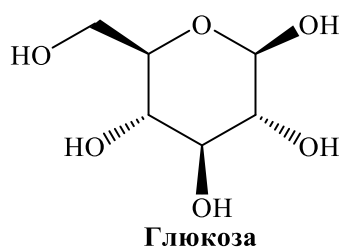
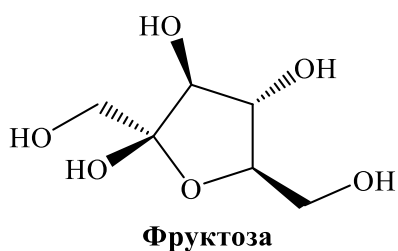
1. Основное отличие флавоноидов от других классов соединений. Строение и классификация флавоноидов.
2. Назовите источники флавоноидов.
3. Назовите основные свойства и области применения каждого класса природных флавоноидов.
4. Какие группы в структуре флавоноидов придают им антиоксидантную активность?
5. Какое влияние флавоноиды оказывают на здоровье человека?
6. Какие флавоноиды имеют яркую красную окраску?
7. Назовите методы, позволяющие провести качественное определение флавоноидов в образце.
8. Запишите уравнение химической реакции, протекающей при проведении теста Шимоды.
9. Назовите методы, позволяющие провести количественное определение флавоноидов в образце.
10. Принцип работы роторного вакуумного испарителя.
11. Назовите виды хроматографии.

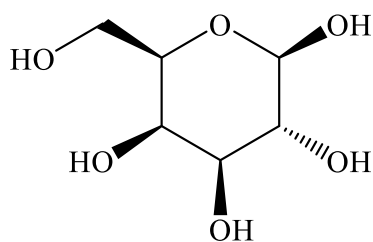
6. Углеводы

Углеводы - это органические вещества, содержащие карбонильную группу и несколько гидроксильных групп. Углеводы разделяют на моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

Моносахариды накапливаются в клетках растений и микроорганизмов в результате фотосинтеза. Они необходимы для выработки энергии, которую клетки используют для выполнения метаболических и биологических функций. Моносахариды входят в состав олигосахаридов, полисахаридов, гликозидов и смешанных углеводсодержащих биополимеров - гликопротеидов, гликолипидов.

Наиболее важными моносахаридами являются глюкоза, фруктоза и галактоза (рис. 6.1).





Галактоза

Рис. 6.1. Строение моносахаридов

Фруктоза - природный сахар, содержащийся во многих фруктах. Фруктоза входит в состав дисахарида сахарозы и полисахарида инулина. В равных количествах фруктоза слаще глюкозы или сахарозы и поэтому часто используется в качестве подсластителя в производстве продуктов питания, например газированных напитков. Фруктозу также рекомендуют использовать для приготовления пищи для людей страдающих диабетом. Однако, чрезмерное потребление данного углевода может приводить к ожирению и нарушению обмена веществ. Фруктоза в большом количестве содержится в глюкозно-фруктозных сиропах, которые получают из кукурузного крахмала с помощью фермента – глюкоз изомеразы.

Глюкоза (декстроза) в большом количестве содержится во фруктах и меде и является основным свободным сахаром, находящимся в крови высших животных. Она особенно важна для мозга, эритроцитов и мышечных клеток во время тренировок. Глюкозу в виде водного раствора используют при лечении отравления, связанного с некачественной пищей или с инфекцией. Также препараты на основе глюкозы применяются эндокринологами при определении наличия и типа сахарного диабета у человека.

Галактоза отличается от глюкозы пространственным расположением водородной и гидроксильной групп у 4-го углеродного атома. Благодаря этому физические, химические и биохимические свойства галактозы отличаются от таковых глюкозы. Галактоза содержится в животных и растительных организмах, и микроорганизмах. Основным источником галактозы в продуктах питания является дисахарид – лактоза, который состоит из одной молекулы глюкозы и одной молекулы галактозы. Лактоза встречается только в молоке. Галактоза является источником энергии, а также участвует в биосинтезе многих макромолекул в организме. Например, галактоза является важным компонентом сложных полисахаридов, которые входят в состав клеточных мембран, гормонов, гликопротеинов и галактолипидов, которые являются важными структурными элементами центральной нервной системы. Галактоза входит в состав галакто-олигосахаридов (ГОС), которые используют в качестве пребиотиков и способствуют росту бифидобактерий.

Олигосахариды – это углеводы, содержащие от 2 до 10 моносахаридных остатков. Наиболее важными олигосахаридами являются *дисахариды*.

Дисахариды состоят из двух молекул моносахаридов, связанных вместе гликозидной связью. Важнейшими дисахаридами являются сахароза, мальтоза и лактоза (рис. 6.2).

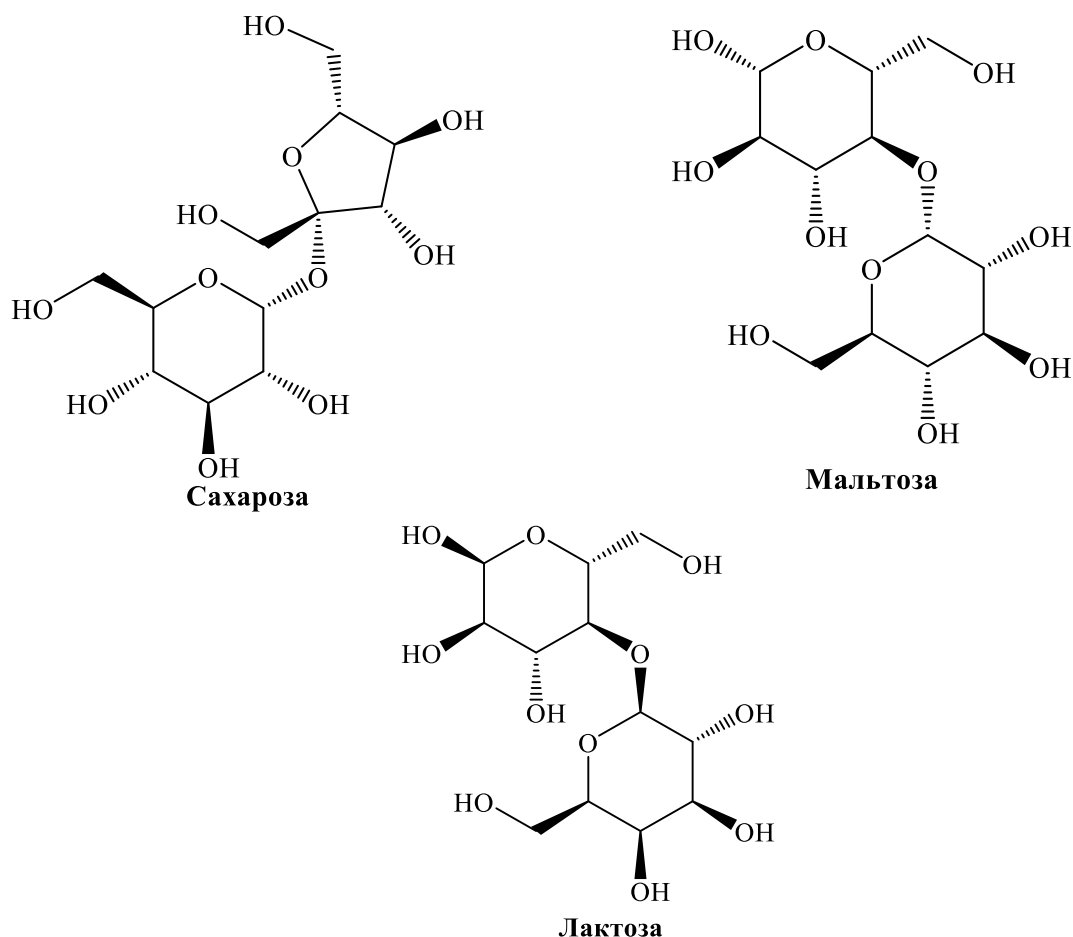


Рис. 6.2. Структура дисахаридов

Сахароза содержит одну молекулу глюкозы, связанную с одной молекулой фруктозы. Сахарозу получают из сахарной свеклы или сахарного тростника. Сахароза используется в пищевой промышленности в качестве подсластителя и консерванта.

Мальтоза состоит из двух молекул глюкозы. Мальтоза встречается в свободном виде в некоторых растениях. Мальтоза образуется в желудочно-кишечном тракте при ферментативном расщеплении крахмала, гликогена и других углеводов и гидролизуется далее до глюкозы. В промышленности мальтозу получают путем гидролиза крахмала в присутствии фермента β -амилазы, содержащегося в солоде, или ферментацией крахмала при помощи особого грибка. Мальтоза применяется в пищевой промышленности при изготовлении продуктов детского питания, в производстве кондитерских изделий, а также в микробиологии для приготовления питательных сред.

Полисахариды представляют собой цепочку моносахаридов. Цепочки полисахаридных молекул содержат от 10 до тысяч остатков моносахаридов.

Цепочка может быть неразветвленной и разветвленной.

Полисахариды выполняют разные функции в организме:

- запасную (резервную). Резервные полисахариды запасаются в качестве источника энергии у животных и растений. Примерами таких полисахаридов являются гликоген и крахмал, которые состоят из остатков глюкозы.

Гликоген является главным животным полисахаридом. Крахмал запасают растения. Главными источниками крахмала являются картофель и злаковые культуры. Люди и животные способны усваивать и использовать крахмал в качестве источника энергии;

- структурную и опорную. Одной из основных структурных составляющих растений является целлюлоза. Хитин выполняет аналогичную функцию у грибов, а также обеспечивает жёсткость экзоскелета членистоногих;

- защитную. Примером является вещество гепарин, серосодержащий гликозаминогликан. Он синтезируется в печени, лёгких и стенках сосудов животных. Гепарин препятствует образованию сгустков крови и ее свёртыванию. Гепарин широко применяется в случаях, когда необходимо предотвратить свёртывание крови, например при профилактике и лечении тромбоза вен, а также при выполнении операций на сердце и кровеносных сосудах.

- регуляторную. Некоторые полисахариды выполняют функцию пребиотиков. Так, полисахарид инулин, состоящий из 30 - 35 остатков D-фруктозы, является естественным пребиотиком, который используется для обогащения продуктов питания.

Лабораторная работа 6.1. Получение лактозы из молока

Цель работы

Получение лактозы.

Теоретическое введение

Лактоза является главным углеводом молока (от лат. *lactis* — молоко), содержание которой составляет 4–6% от массы молока. Молекула лактозы состоит из остатков молекул глюкозы и галактозы (рис. 6. 2). Лактозу называют молочным сахаром. Сладость лактозы значительно ниже, чем фруктозы и глюкозы. Для людей с непереносимостью лактозы производится безлактозное молоко. Лактозу получают из продукта переработки молока - молочной сыворотки. Лактозу применяют в различных отраслях промышленности, в частности, фармацевтической (при производстве пенициллина, лактулозы и других лекарственных средств) и пищевой (при производстве детских молочных смесей).

Оборудование и реактивы

pH-метр, колба объёмом 250 мл, роторный вакуумный испаритель, фарфоровая чашка, воронка Бюхнера, водяная баня, химический стакан, марля, этиловый спирт, коровье молоко.

Ход работы

В плоскодонную колбу объёмом 250 мл вносят 100 г молока и подкисляют концентрированной уксусной кислотой до pH 4,7 – 5,7. Полученный раствор нагревают до 70 °С в течение 15 мин. При данных условиях происходит денатурация белков молока и выпадение их в осадок. Полученный раствор фильтруют на воронке Бюхнера. Осадок в дальнейшей работе не используется. Прозрачный фильтрат упаривают в вакууме при 50 °С на роторном вакуумном испарителе до начала образования осадка. Выпавший после охлаждения сырой кристаллический продукт отфильтровывают на воронке Бюхнера и сушат. При необходимости проводят повторное упаривание фильтрата. Чистую лактозу получают перекристаллизацией из воды. Для этого навеску лактозы растворяют в минимальном объеме дистиллированной воды при температуре 60 °С на водяной бане. Затем в колбу добавляют небольшими порциями этиловый спирт до помутнения раствора и оставляют в покое на ночь в холодильнике. Через несколько часов в колбе начинают выпадать кристаллы лактозы. Выпавшие кристаллы лактозы отсасывают и промывают чистым этиловым спиртом (96%). Затем взвешивают сухой продукт и определяют его выход.

Контрольные вопросы

1. Строение и классификация углеводов.
2. Назовите источники углеводов.
3. Назовите основные функции моно-, ди- и полисахаридов в природе.
4. Какое влияние углеводы оказывают на здоровье человека?
5. Назовите основные функции моно-, ди- и полисахаридов в промышленности.
6. К какому классу углеводов относится лактоза? Какие источники лактозы вы знаете?
7. Каким образом проводят очистку лактозы от примесей?

7. Белки

Белки (протеины) – это высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения, молекулы которых построены из остатков аминокислот. Белки являются необходимыми компонентами всех живых организмов и играют важную роль в жизнедеятельности клетки. Белки осуществляют множество различных функций. В некоторых случаях один и тот же белок может выполнять несколько функций. Белки делятся на простые (состоящие только из аминокислот) и сложные (включающие, помимо аминокислот, простетическую группу). Выполняемые белками функции очень разнообразны и включают каталитическую (ею обладают ферменты), структурную, транспортную, защитную и многие другие функции. Длительная нехватка белка в рационе или питание неполноценными по аминокислотному составу белками могут приводить к ряду тяжелых заболеваний. Потребление с пищей полноценных по аминокислотному составу белков является ключевым фактором в поддержании здоровья живого организма. В настоящее время в пищевой промышленности и кормопроизводстве широко применяются белковые препараты, содержащие белки и продукты их гидролиза - пептиды растительного и животного происхождения.

Главной задачей таких препаратов является обеспечение поступления в организм человека и животных полноценных строительных и регуляторных белков, улучшающих усвоение других классов соединений, важных для жизнедеятельности организма. Применение белковых препаратов позволяет интенсифицировать технологические процессы, улучшить качество готовой продукции, увеличить ее выход и сэкономить ценное пищевое сырье.

Белки и пептиды нашли широкое применение в пищевой промышленности, медицине и производстве кормов (табл. 7.1).

Таблица 7.1. Активные белки и пептиды, область их применения

Наименование белка или пептида	Область применения
1	2
Антифризные пептиды	Кондитерская промышленность, молочная промышленность, медицина
Низин	Пищевая промышленность
Овальбумин	Кондитерская промышленность, хлебопечение, молочная промышленность
Желатин	Кондитерская промышленность, фармацевтика, косметология
Казеин	Молочная промышленность, изготовление искусственных волокон, фармацевтических продуктов (гидрогели для тканевой инженерии), специализированных пищевых продуктов

1	2
Мясо-костная и рыбная мука	Кормопроизводство
Рекомбинантные кормовые пептиды	Кормопроизводство
α -Амилаза	Пищевая промышленность, кормопроизводство
β -Фруктофуранозидаза	Кондитерская промышленность
L-аспарагиназа	Пищевая промышленность, медицина
Химозин	Пищевая промышленность, медицина
Липаза	Пищевая промышленность, медицина
Лактаза	Пищевая промышленность, медицина
Лизоцим	Пищевая промышленность, медицина
Глюкооксидаза	Кондитерская промышленность, пивоваренная промышленность, виноделие, соковая промышленность
Каталаза	Кондитерская промышленность, пивоваренная промышленность, виноделие, соковая промышленность
Карбоксипептидаза	Мясная промышленность, фармацевтическая промышленность
Трипсин	Мясная промышленность, фармацевтическая промышленность
Коллагеназа	Мясная промышленность, фармацевтическая промышленность
Папаин	Мясная промышленность, фармацевтическая промышленность
ДНК-полимераза	Пищевая промышленность, сельское хозяйство, биомедицина
Ревертаза	Пищевая промышленность, сельское хозяйство, биомедицина
Пероксидаза	Пищевая промышленность, сельское хозяйство, биомедицина
Целлюлазы	Сельское хозяйство, кормопроизводство, вино-водочная промышленность
Пектиназа	Пищевая промышленность
Фитаза	Кормопроизводство

Лабораторная работа 7.1. Ксантопротеиновая (Мульдера) реакция на присутствие в белках ароматических аминокислот и тирозина

Цель работы

Изучение методики обнаружения ароматических аминокислот в белках.

Теоретическое введение

Аминокислоты являются гетерофункциональными органическими соединениями, которые содержат основную (основные) аминогруппу и карбоксильную (карбоксильные) группы. Аминокислоты, содержащие бензольное кольцо, называются ароматическими. К ароматическим аминокислотам относятся фенилаланин и тирозин. Ароматическое кольцо содержит и гетероциклическая аминокислота триптофан (рис. 7.1).

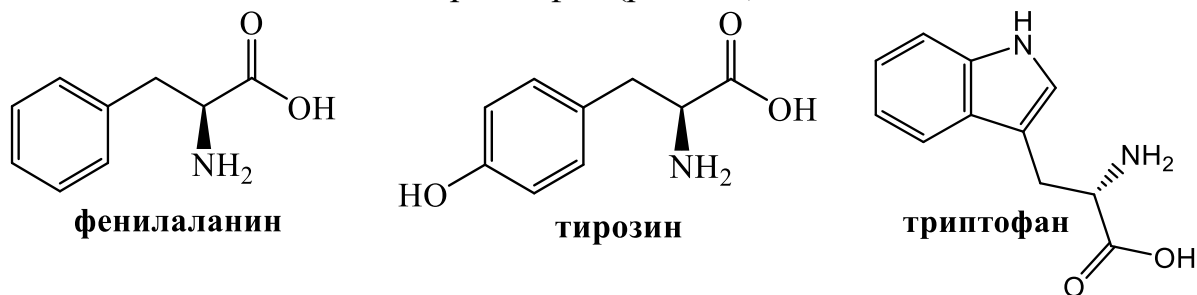


Рис. 7.1. Строение фенилаланина, тирозина и триптофана

Благодаря наличию заместителей в бензольном кольце аминокислоты фенилаланин, тирозин и триптофан реагируют с концентрированной азотной кислотой с образованием окрашенных соединений. Гетероциклическая аминокислота гистидин не вступает в реакцию.

В греческом языке слово ксанто (xantho) означает желтый цвет. Продуктами реакции нитрования ароматических аминокислот и тирозина являются моно- и динитросоединения желтого цвета. По этой причине реакцию называют ксантопротеиновой. В щелочной среде динитросоединения меняют цвет с желтого на оранжевый (схема 7.1).

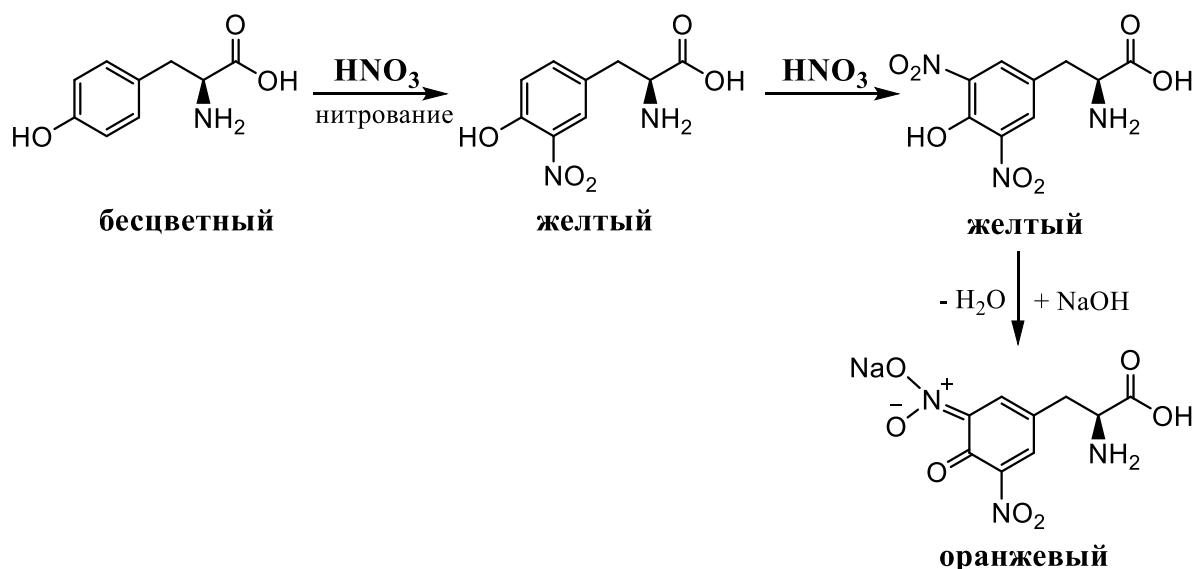


Схема 7.1. Взаимодействие тирозина с азотной кислотой

Оборудование и реактивы

Химический стакан объемом 50 мл, электроплитка, пробирка, яичный белок, желатин, азотная кислота, гидроксид натрия, дистиллированная вода.

Ход работы

1. Подготовка образца

В химическом стакане взвешивают 0,1 г яичного белка или желатина и добавляют 10 мл воды. Полученную смесь тщательно перемешивают до полного растворения белков.

2. Нитрование

В пробирку помещают 1 мл подготовленного раствора белка, добавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты и осторожно нагревают смесь до кипения. Желтый цвет раствора (осадка) свидетельствует о наличии ароматических аминокислот. После охлаждения в пробирку добавляют 10 капель 20%-го раствора гидроксида натрия. При наличии в анализируемой пробе тирозина образуется натриевая соль динитротирозина оранжевого цвета. Сравнивают полученные результаты для разных белков.

Лабораторная работа 7.2. Обнаружение остатков фосфорной кислоты в белках

Цель работы

Изучение методики обнаружения остатков фосфорной кислоты в белках.

Теоретическое введение

Фосфорилирование белков является важным биологическим процессом. Основная роль фосфорилирования заключается в регулировании активности белков. Известно, что почти все процессы, регулируемые фосфорилированием белка, являются обратимыми и контролируются совместным действием двух разных классов ферментов: протеинкиназ и фосфатаз. Под действием протеинкиназ образуются фосфопротеины – сложные белки, в которых в качестве небелковой части присутствует фосфорная кислота (рис. 7.2). В образовании сложноэфирной связи с фосфатом участвуют гидроксильные группы аминокислот: серина или треонина

К фосфопротеинам относятся: казеин, вителлин, витин, ихтулин, пепсин, фосфорилаза, фосфоглюколаза.

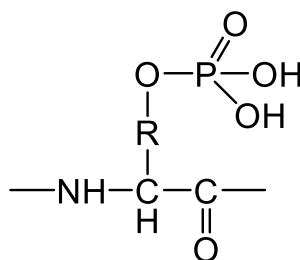


Рис. 7.2. Фрагмент полипептидной цепи белка, содержащий остаток фосфорной кислоты

Фосфопротеины выполняют различные функции в организме человека. Так, казеин содержит необходимые для роста ребенка аминокислоты, фосфорную кислоту и кальций. Благодаря этому казеин выполняет питательную и транспортную функции (доставляет кальций). Это определяет его полезность для организма ребенка.

Метод обнаружения фосфопротеинов основан на образовании осадка лимонно-желтого цвета при реакции молибдата аммония с фосфат-ионами, образующимися при гидролизе белков под действием щелочи в водных растворах при нагревании (схема 7.2):

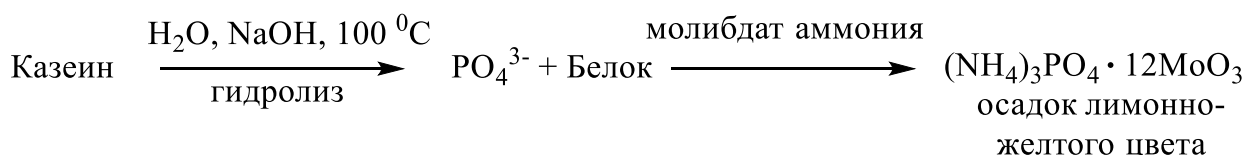


Схема 7.2. Определение фосфопротеинов

Оборудование и реактивы

Пробирка, стеклянная воронка, колба на 50 мл, обратный холодильник, молоко, концентрированная уксусная кислота, дистиллированная вода, гидроксид натрия, молибдат аммония, фенолфталеин.

Ход работы

1. Выделение казеина из молока

В пробирку последовательно наливают 2 мл молока, 2 мл дистиллированной воды и добавляют 1 каплю концентрированной уксусной кислоты. Пробирку встряхивают и оставляют в покое до образования осадка. Осадок казеина отфильтровывают на складчатом фильтре и дважды промывают дистиллированной водой.

2. Гидролиз казеина

В пробирку или колбу на 50 мл, снабженную обратным холодильником, последовательно помещают 0,5 г казеина, 25 мл 10%-го водного раствора гидроксида натрия и кипятят 10 – 15 мин. Охлаждают смесь и проводят качественную реакцию на фосфат в гидролизате.

3. Обнаружение фосфата

К раствору гидролизата казеина добавляют 1 каплю фенолфталеина. Затем к полученному раствору добавляют по каплям 10%-й раствор азотной кислоты до исчезновения розовой окраски и фильтруют через складчатый фильтр. Затем в пробирку отбирают 1 мл фильтрата, добавляют 20 капель насыщенного водного раствора молибдата аммония и кипятят смесь 1 – 2 мин. Окрашивание жидкости в жёлтый цвет и образование желтого осадка указывает на присутствие фосфатов в продуктах гидролиза казеина и, следовательно, и в исходном казеине.

Контрольные вопросы

1. Назовите функции белков в природе.
2. Дайте определение понятию белковый препарат.
3. Назовите области и цели применения белковых препаратов в пищевой промышленности. Приведите примеры.
4. Назовите области и цели применения белковых препаратов в медицине. Приведите примеры.
5. Назовите области и цели применения белковых препаратов в сельском хозяйстве и кормопроизводстве. Приведите примеры.
6. Какие аминокислоты позволяет обнаружить ксантопротеиновая реакция?
7. Приведите примеры фосфорсодержащих белков.
8. Какая химическая реакция лежит в основе метода обнаружения фосфопротеинов?

8. Антибиотики

Антибиотики - это химиотерапевтические вещества, продуцируемые различными микроорганизмами, растениями, животными в процессе их жизнедеятельности, а также их синтетические аналоги и производные, обладающие способностью убивать или избирательно подавлять рост возбудителей заболеваний (бактерий, грибов, простейших) или задерживать развитие злокачественных опухолей. Первый антибиотик пенициллин в чистом виде выделили ученые Х. Флори и Дж. Чейн в 1934-1940 годах.

Существует несколько способов классификации антибиотиков:

- по видам продуцента;
- в зависимости от характера биологического действия;
- по химическому строению антибиотики делятся на (рис. 8.1):

1. Антибиотики алициклической структуры (группа тетрациклинов, их полусинтетические аналоги).

2. Антибиотики ароматического ряда (группа левомицетина).

3. Антибиотики гетероциклической структуры (пенициллины, их полусинтетические аналоги; цефалоспорины).

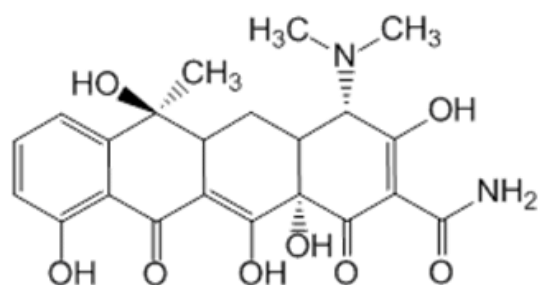
4. Антибиотики гликозидной структуры:

- Стрептомицины;
- Аминогликозиды (канамицин, неомицин, гентамицин, мономицин);
- Макролиды (эритромицин и олеандомицин)
- Анзамицины (рифамицин и его полусинтетические аналоги).

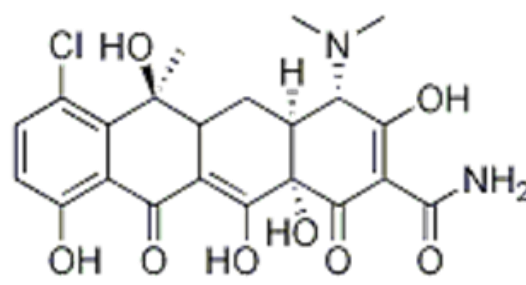
5. Полиеновые антибиотики гликозидоподобной структуры (нистатин, амфотерицин, микогептин).

6. Антибиотики-полипептиды (граммицидины, полимиксины и др.).

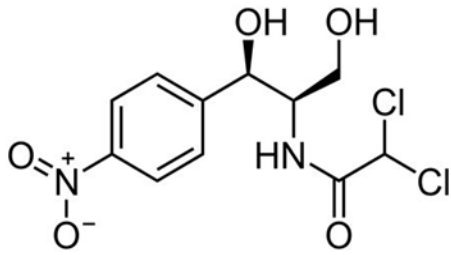
7. В отдельную группу выделяют противоопухолевые антибиотики: - производные ауреоловой кислоты - антрациклины; производные хинолин-5,8-диона - актиномицин.



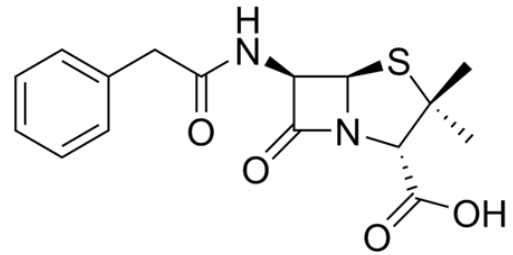
Тетрациклин



Хлортетрациклин



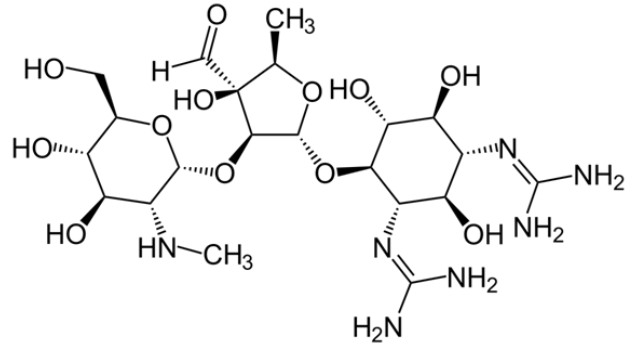
Левомецетин



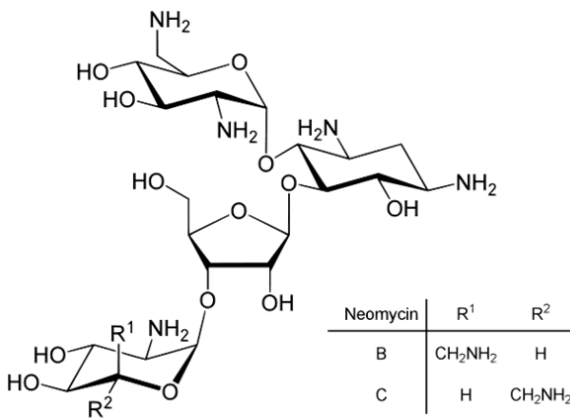
Бензилпенициллин



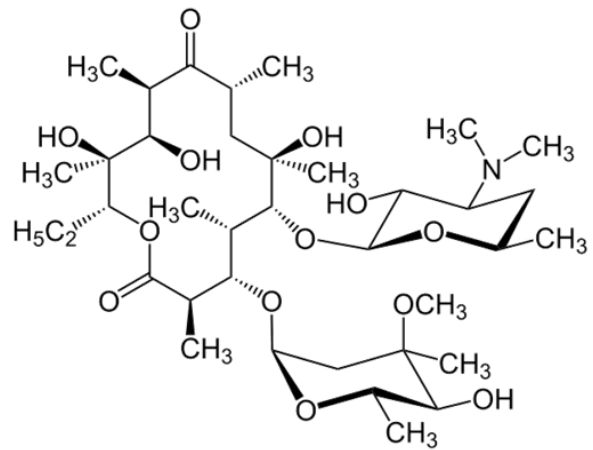
Цефалексин



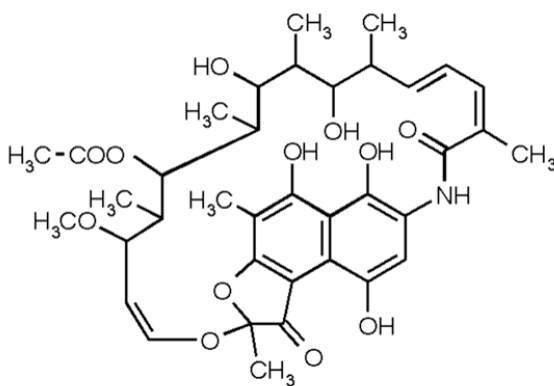
Стрептомицин



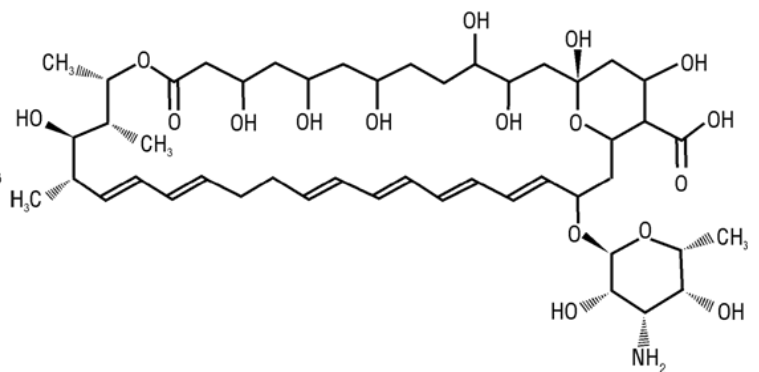
Неомицин



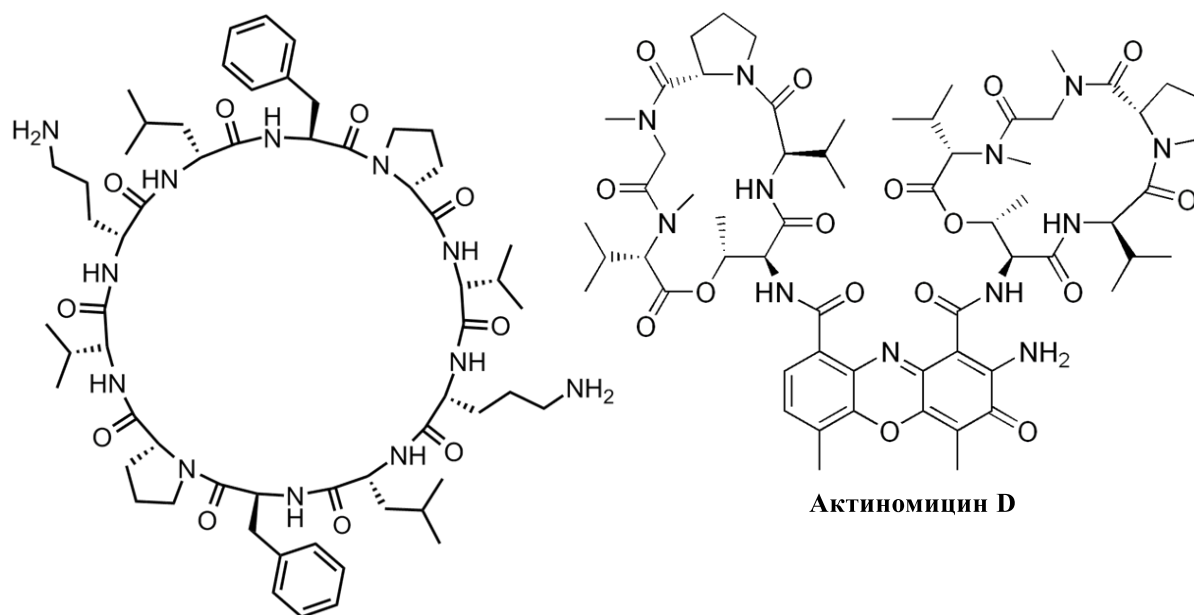
Эритромицин



Рифамицин



Нистатин



Грамицидин С

Рис. 8.1. Химические структуры антибиотиков

Несмотря на очевидную пользу, неконтролируемое применение антибиотиков в сельском хозяйстве приводит к загрязнению пищевой продукции животного происхождения их остаточными количествами и способствует увеличению устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Длительное использование в пищу таких продуктов может приводить к неблагоприятным последствиям для здоровья человека - аллергические реакции, дисбактериоз, образование и передача резистентных форм микробов и т.д. Контроль содержания антибиотиков в пищевой продукции позволяет избежать негативного воздействия на здоровье человека. Нормы содержания антибиотиков в продуктах питания приведены в технических регламентах Таможенного союза «О качестве и безопасности пищевой продукции» ТР ТС 021/2011, «О безопасности молока и молочной продукции» ТР ТС 033/2013, «О безопасности мяса и мясной продукции» ТР ТС 034/2013, ТР ЕАЭС 040/2016 «О безопасности рыбы и рыбной продукции». Лабораторные исследования пищевой продукции проводятся в ходе контрольно - надзорных мероприятий Роспотребнадзора в испытательных лабораторных центрах гигиены и эпидемиологии по субъектам Российской Федерации.

Лабораторная работа 8.1. Качественное определение антибиотиков

Цель работы

Изучение методов качественного обнаружения антибиотиков.

Теоретическое введение

Контроль наличия антибиотиков в пищевой продукции проводят с помощью качественного и количественного методов анализа. Качественный анализ может быть выполнен микробиологическими и химическими методами.

Микробиологические методы основаны на непосредственном биологическом действии антибиотиков на чувствительные штаммы микроорганизмов. В основе химических методов лежит индивидуальность химической структуры и характер функциональных групп, в зависимости от которых антибиотики дают разные реакции, преимущественно цветные. Обе группы методов являются достаточно точными и позволяют определять минимальные концентрации антибиотиков в исследуемом материале.

В лабораторной работе приведены примеры идентификации антибиотиков химическими методами.

Оборудование и реактивы

Термостойкая пробирка объемом 5 мл, фарфоровая чашка объемом 25 мл, пипетка, антибиотики (в соответствии с заданием преподавателя), 10 %-й водный раствор хлорида железа (III), хлорид кобальта (II), сульфат железа (III), 1 %-й раствор нитрита натрия, 1 %-й водный раствор нитрата серебра, 1% водный раствор аммиака, 15 %-й раствор соляной кислоты, концентрированная серная кислота, концентрированная азотная кислота, реактив Эрсмана (смесь концентрированной серной и азотной кислот), 1 М водный раствор гидроксида натрия, 1 н. раствора гидроксилamina гидрохлорида, ледяная уксусная кислота, 5 %-й водный раствор нитрата (сульфата) меди, 5 %-й раствор хлорида бария.

Ход работы

Качественные реакции на антибиотики

1. Идентификация фенольного гидроксила.

а) Реакция с хлоридом железа. В пробирке объемом 5 мл смешивают 1 мл водного или спиртового раствора исследуемого вещества с 0,25 мл 10 % раствора хлорида железа (III). Появление коричневого окрашивания раствора указывает на наличие фенольного гидроксила в структуре исследуемого со-

единения. Такое характерное окрашивание наблюдается для следующих медицинских препаратов: амосциллин, тетрациклин, септолете, ванкомицин, окситетрациклин.

б) Нитрозореакция Либермана. Крупинку анализируемого вещества помещают в фарфоровую чашку и последовательно добавляют 2-3 капли 1 %-го водного раствора нитрита натрия и 0,1 мл концентрированной серной кислоты. Светло-коричневый цвет раствора, изменяющийся при добавлении к нему 1 мл 1 М водного раствора гидроксида натрия на желтый, указывает на наличие фенольного гидроксила в структуре исследуемого соединения. Данная реакция характерна для тетрациклина и амосина.

2. Идентификация альдегидной группы проводится по реакции с аммиачным раствором нитрата серебра.

В пробирке объемом 5 мл смешивают 2 мл раствора нитрата серебра с 0,5 мл раствора аммиака, 0,15 мл водного концентрированного раствора исследуемого вещества и нагревают до кипения. Образование металлического серебра на поверхности пробирки (в виде зеркала) или серого осадка указывает на наличие альдегидной группы в структуре исследуемого соединения. Примером таких антибиотиков является стрептомицин.

3. Идентификация карбоксильной группы.

В химический стакан помещают 0,2 г исследуемого образца, добавляют 20 мл дистиллированной воды, нагревают до 40 °С и выдерживают в течение 30 минут при заданной температуре при постоянном перемешивании. Далее в три стеклянных колбы объемом 25 мл отмеряют 5 мл полученного теплого раствора. В первую колбу приливают 1 мл раствора сульфата меди (II), во вторую – водный раствор хлорида кобальта (II) и в последнюю колбу – водный раствор сульфата железа (III). Наблюдают за изменением цвета раствора. Появление цвета (голубого в первой колбе, сине-розового – во второй и розовато-желтого – в третьей) указывает на наличие карбоксильной группы. Данная реакция характерна для следующих лекарств: пенициллин, амосин, стрептомицин, оксациллин.

4. Идентификация первичной ароматической аминогруппы по пробе на лигнине.

На лигнин (газетную бумагу) помещают несколько кристаллов вещества, 1-2 капли 15 %-го водного раствора соляной кислоты. На наличие первичной ароматической аминогруппы в структуре судят по появлению желтого или оранжевого окрашивания анализируемой пробы. В качестве примера можно использовать препараты нистатин, амоксициллин, амосин, бисептол, сульфадимезин.

5. Идентификация вторичной аминогруппы.

В химический стакан на аналитических весах отмеряют 0,02 г лекарственного вещества и растворяют в 1 мл дистиллированной воды, прибавляют

1 мл раствора нитрита натрия и 0,1 мл 15 %-го водного раствора соляной кислоты. Образование белого или зеленовато-бурого осадка указывает на наличие вторичной аминогруппы в структуре веществ, входящих в состав лекарства. Положительный результат в данном тесте наблюдается для препаратов хлоргексидин, стрептомицин, капсофунгин.

6. Идентификация третичной аминогруппы.

а) Кислота азотная концентрированная. На чашку Петри помещают 5 мг вещества в виде порошка и прибавляют 1-2 капли реактива. При наличии третичной аминогруппы в структуре исследуемого вещества наблюдается кратковременное синее переходящее в желтое окрашивание раствора, выделение пузырьков газа.

б) Кислота серная концентрированная. Эксперимент выполняется аналогично выше описанной в пункте «а» методике. При наличии третичной аминогруппы в структуре исследуемого вещества наблюдается желтое окрашивание раствора.

в) Реактив Эрсмана (смесь концентрированной серной и азотной кислот). Эксперимент выполняется аналогично выше описанной в пункте «а» методике. При наличии третичной аминогруппы в структуре исследуемого вещества наблюдается желтое окрашивание раствора и выделяется бурый газ.

Положительный результат в данном тесте наблюдается для препаратов эритромицин, олететрин, тетрациклин, окситетрациклин.

7. Идентификация амидной группы.

а) На технических весах в химическом стакане взвешивают 0,1 г исследуемого вещества, добавляют 1 мл дистиллированной воды, прибавляют 0,5 мл 1 М раствора гидроксида натрия и нагревают до кипения. Если в структуре исследуемого антибиотика, входящего в состав лекарства, содержится амидная группа, то ощущается запах выделившегося аммиака или амина. Положительный результат в данном тесте наблюдается для препаратов оксациллин, бициллин, ампициллин, грамоцидин.

б) *Гидроксамовая реакция.* Основана на взаимодействии амидов с гидроксиламином с образованием амина и гидроксамовой кислоты, которая образует окрашенные комплексы с солями железа (III) или меди (II).

В химическом стакане объемом 5 мл смешивают 0,5 мл 1 н. водного раствора гидроксиламина гидрохлорида и 0,15 мл 1 н. раствора гидроксида натрия.

В две пробирки объемом 5 мл помещают по 0,01 г бензилпенициллина и добавляют пипеткой 1 каплю полученного раствора гидроксиламина. Далее через 2-3 мин к полученной смеси чистой пипеткой добавляют 1 каплю ледяной уксусной кислоты, пробирки закрывают резиновой пробкой и тщательно встряхивают. Затем добавляют в первую пробирку 1 каплю 5 %-го водного раствора хлорида железа (III), а во вторую пробирку прибавляют 1 каплю 5% раствора нитрата (сульфата) меди. Появление красно-фиолетового (в первой

пробирке) и зеленого цвета (во второй пробирке) указывает на наличие в структуре исследуемого вещества амидной группы.

8. Реакция обнаружения серы.

В химическом стакане объемом 10 мл на аналитических весах взвешивают 0,01 г бензилпенициллина, прибавляют 2-3 мл концентрированной азотной кислоты и кипятят под тягой в течение 2-3 мин. Далее дают остыть образцу до комнатной температуры и прибавляют 0,5 мл 5%-ного водного раствора хлорида бария. Выпадение белого осадка указывает на наличие серы в структуре исследуемого вещества.

9. Реакция на первичные ароматические амины.

Около 0,01 г бензилпенициллина растворяют в 2 мл воды, прибавляют 0,5 мл 15% соляной кислоты, 0,5 мл 1% раствора нитрита натрия. Полученный раствор хорошо перемешивают и прибавляют 1 мл щелочного раствора бета-нафтола. Появление вишнево-красного окрашивания раствора указывает на наличие ароматических аминов в структуре исследуемого вещества.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение понятию антибиотик.
2. Назовите области и цели применения антибиотиков.
4. По каким признакам классифицируют антибиотики?
5. Какие риски несет загрязнение пищевой продукции антибиотиками?
6. Назовите методы качественного контроля содержания антибиотиков в пищевой продукции. Какие принципы положены в основу качественного обнаружения антибиотиков?
7. Назовите основные функциональные группы, которые можно определить в антибиотиках химическим методом.

Синтетические биологически активные вещества

Важно помнить, что природа всегда является основным источником сырья для получения различных веществ. Термины «природный» и «синтетический» используются с целью разделить способы получения веществ. Природное вещество представляет собой соединение, которое образовано без вмешательства человека. Вещества полностью или частично произведенные человеком разными методами в специальных лабораториях называются синтетическими.

Химический синтез биологически активных соединений является одним из основных направлений химии. Он позволяет получать синтетические вещества, идентичные тем, которые встречаются в природе. Примером является бензойная кислота. Она может быть получена из толуола, который выделяют из нефти или угля, или выделена из растений. Независимо от способа получения бензойная кислота будет иметь одинаковые свойства.

Химический синтез также позволяет разрабатывать новые биологически активные соединения, которые могут быть полезны при производстве пищевых продуктов или лечении различных заболеваний. Примером являются синтетические (искусственные) подсластители. Их применяют для получения низкокалорийных и в некоторых случаях для полной замены углеводов в составе пищевых продуктов. Синтетические гербициды широко применяются в сельскохозяйственной промышленности, синтетические антибиотики - в лечении болезней животных и человека.

9. Бензойная кислота

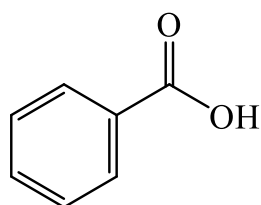
Лабораторная работа 9.1. Получение бензойной кислоты

Цель работы

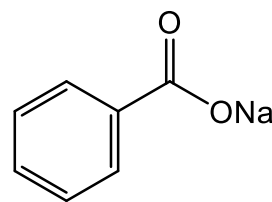
Получение бензойной кислоты

Теоретическое введение

Бензойная кислота - простейшая одноосновная карбоновая кислота ароматического ряда. Формулы бензойной кислоты и ее соли - бензоата натрия представлены на рис. 9.1.



Бензойная кислота



Бензоат натрия

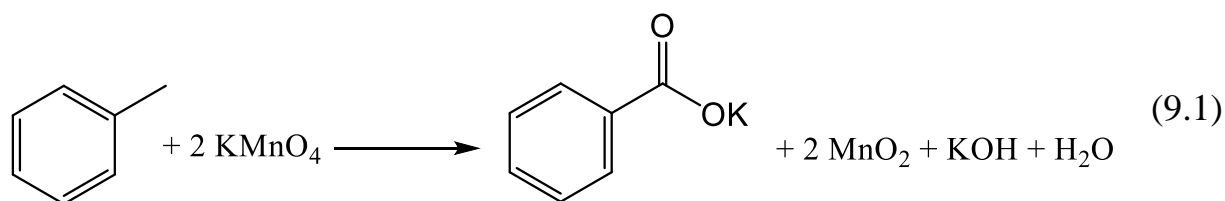
Рис. 9.1. Строение бензойной кислоты и ее соли - бензоата натрия

Бензойная кислота при комнатной температуре существует в виде бесцветных или белых игл или листочков. Она плохо растворима в воде: 0,18, 0,27 и 2,2 г/100 мл воды при 4, 18 и 75 °С соответственно. Бензоат натрия представляет собой белый гранулированный или кристаллический порошок. Он лучше растворяется в воде, чем бензойная кислота: 62,8, 66,0 и 74,2 г/100 мл воды при 0, 20 и 100 °С соответственно. По этой причине бензоат натрия более широко используется в промышленности. Другие соли бензойной кислоты - бензоат калия или кальция, также находят применение. Однако их растворимость в воде меньше, чем у натриевой соли.

Бензойная кислота содержится во фруктах, ягодах, черном чае, молочнокислых продуктах, специях и ароматизаторах, меде.

Бензойная кислота обладает антимикробными свойствами. Благодаря этому свойству эту кислоту и её соли используют в качестве консервантов. Оптимальный диапазон концентрации бензойной кислоты при консервировании пищевых продуктов составляет 0,05 – 0,10%.

Существует несколько способов получения бензойной кислоты. В небольших количествах для лабораторного практикума кислоту получают окислением толуола перманганатом калия (реакция 9.1):



Оборудование и реактивы

Круглодонная колба, обратный холодильник, стакан, колба коническая, толуол, перманганат калия, соляная кислота, универсальная индикаторная бумага

Ход работы

В круглодонной колбе, снабжённой обратным холодильником, смешивают 1,5 мл толуола со 100 мл водного раствора перманганата калия (4 г/100 мл H_2O), в колбу помещают несколько «кипелок» и осторожно кипятят до исчезновения розовой окраски (примерно 4 ч). Горячий раствор фильтруют через складчатый фильтр, осадок на фильтре промывают небольшим количеством горячей воды. Фильтрат переносят в колбу и отгоняют 80 мл воды на установке с прямым холодильником. По окончании перегонки раствор в колбе отфильтровывают от вновь выпавшего оксида марганца (IV). Осадок промывают 5 мл горячей воды. В фильтрат добавляют концентрированную соляную кислоту до кислой реакции по универсальной индикаторной бумаге. При этом осаждается бензойная кислота, которую отфильтровывают, промывают небольшим количеством холодной воды и сушат. Высушенную бензойную кислоту взвешивают и определяют выход готового продукта.

Контрольные вопросы

1. К какому классу соединений относится бензойная кислота? Напишите формулу бензойной кислоты.
2. В каких продуктах естественным образом содержится бензойная кислота?
3. Назовите области и цели применения бензойной кислоты и ее солей в пищевой промышленности.
4. Назовите оптимальный диапазон концентрации бензойной кислоты при консервации пищи.
5. Назовите лабораторный способ получения бензойной кислоты. Запишите химическую реакцию.

10. Гидразид малеиновой кислоты

Лабораторная работа 10.1. Получение гидразида малеиновой кислоты

Цель работы

Получить гербицид - гидразид малеиновой кислоты (ГМК).

Теоретическое введение

Гербициды (от лат. *herba* – трава и *caedo* – убиваю) – химические вещества, применяемые для уничтожения растительности. По характеру действия на растения гербициды подразделяют на два типа:

- 1) сплошного действия, убивающие все виды растений;
- 2) избирательного (селективного) действия, поражающие одни виды растений и не повреждающие другие.

Первый тип гербицидов применяют для уничтожения растительности вокруг промышленных объектов, на лесных вырубках, аэродромах, железных и шоссейных дорогах, под высоковольтными линиями электропередачи, в дренажных каналах, прудах и озёрах, а второй тип – для защиты культурных растений от сорняков (химическая прополка).

ГМК относится к классу гербицидов избирательного действия. Широко используется для предуборочной обработки картофеля и овощных культур в целях задержки прорастания и увеличения сроков хранения клубней, корнеплодов или луковиц.

ГМК получают конденсацией малеинового ангидрида с гидразином (схема 11.1.)

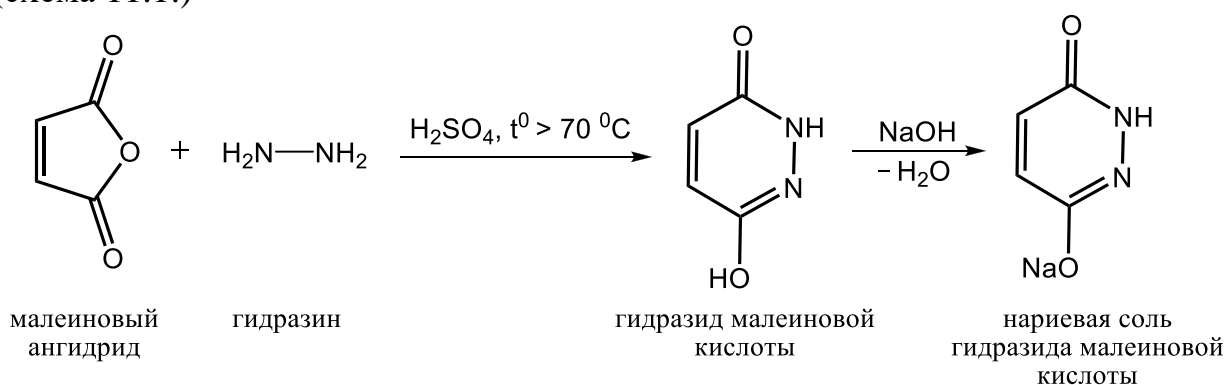


Схема 11.1. Схема получения гидразида малеиновой кислоты

ГМК – кристаллическое вещество белого цвета, слабо растворимое в воде и органических растворителях; температура плавления 296 – 298 °С.

ГМК является одноосновной кислотой и вступает в реакцию с щелочами с образованием солей. Натриевые и калиевые соли гидразида малеиновой кислоты хорошо растворимы в воде. Водные растворы данного гербицида удобны для применения.

Оборудование и реактивы

Установка с обратным холодильником, плитка, аналитические весы, стакан, палочка, индикаторная бумага, малеиновый ангидрид, 50%-й водный раствор солянокислого гидразина.

Ход работы

В колбе объёмом 25 мл смешивают 1 г малеинового ангидрида с 2 мл воды, добавляют 2 мл 50%-го раствора солянокислого гидразина и встряхивают в течение 15 мин. Затем колбу соединяют с обратным холодильником и кипятят в течение 1 ч. После охлаждения из раствора выпадают кристаллы гидразида малеиновой кислоты. Выпавшие кристаллы отфильтровывают на воронке Бюхнера. Для дополнительной очистки отфильтрованный продукт перекристаллизуют из воды. ГМК помещают в колбу объёмом 25 мл и добавляют горячую дистиллированную воду до полного растворения осадка. Полученный раствор оставляют в покое до выпадения осадка гидразида малеиновой кислоты. Чистый гидразид малеиновой кислоты отфильтровывают и высушивают при комнатной температуре. Определяют выход готового продукта.

Контрольные вопросы

1. Классификация гербицидов.
2. Назовите функции гербицидов. Приведите примеры.
3. К какому классу гербицидов относится гидразид малеиновой кислоты?
4. Запишите химическую реакцию получения гидразида малеиновой кислоты.

11. Искусственные подсластители. Аспартам

Лабораторная работа 11.1. Спектрофотометрическое определение аспартама в пищевых продуктах

Цель работы

Определение содержания искусственных подсластителей в пищевых продуктах.

Теоретическое введение

Ежегодно в мире потребляется большое количество подсластителей. Искусственные подсластители, как правило, намного слаще, чем обычный сахар. Благодаря этому сам подсластитель составляет только небольшую часть пищевого продукта. Искусственные подсластители используются в производстве различных пищевых продуктов, а также часто включаются в диету людей, страдающих от ожирения.

Одним из популярных подсластителей является аспартам, строение которого показано на рис. 11.1. Это метиловый эфир дипептида, образованный из аспарагиновой аминокислоты и метилового эфира фенилаланина.

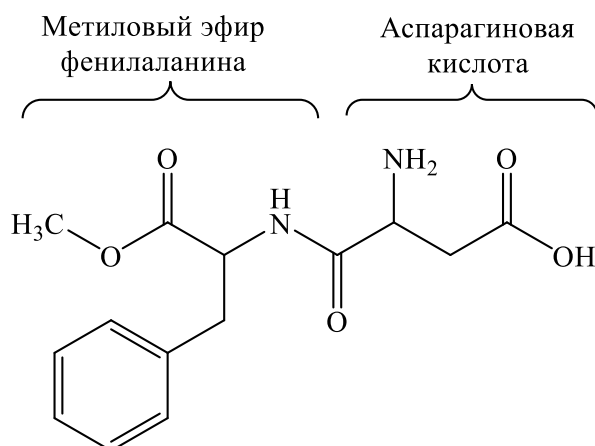


Рис. 11. 1. Строение аспартама

Аспартам способен образовывать комплекс с ионами меди Cu^{2+} в водно-щелочных растворах (рис. 11.2).

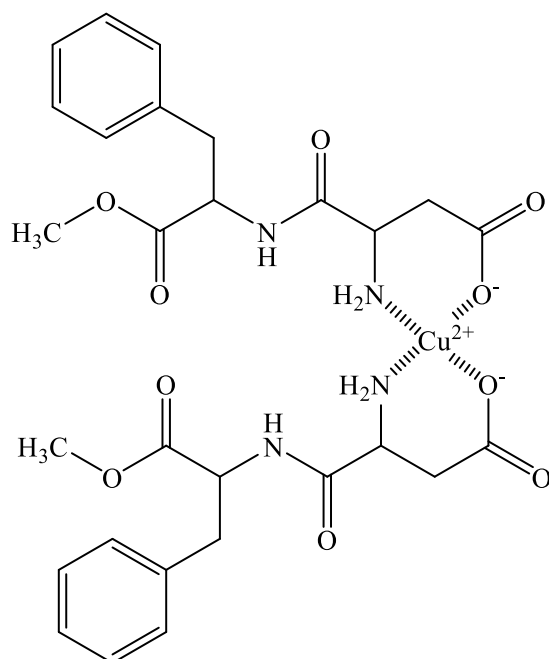


Рис. 11.2 Структура комплекса аспартама с ионом меди Cu^{2+}

Водный раствор этого комплекса окрашен в сине-голубой цвет. Другие подсластители (сахарин, сукралоза и сахароза) не образуют окрашенных комплексов с Cu^{2+} . В лабораторной работе использовано указанное свойство аспартама, отличающее его от других подсластителей.

Оборудование и реактивы

Биуретовый раствор (водный раствор 0,060 моль $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, 0,21 моль натриево-калиевой соли винной кислоты и 0,5 моль Na_2CO_3), дистиллированная вода, водный раствор аспартама с концентрацией 0,02 моль/л, стеклянная пластинка, кюветы для спектрофотометра, спектрофотометр, лабораторная пробирка объемом 2 мл, аликвотная пипетка объемом 5 мл, мерная пипетка объемом 10 мл, мерная колба объемом 10 мл, аналитические весы.

Ход работы

Предварительный анализ исследуемых образцов. В четыре пробирки помещают образцы исследуемых подсластителей (0,3 г). Каждую пробирку заполняют наполовину дистиллированной водой и встряхивают до полного растворения подсластителя. Добавляют 2 мл биуретового раствора, переносят в мерную колбу объемом 10 мл и доводят до метки дистиллированной водой, оставляют в покое на 15 минут. Записывают свои наблюдения.

Далее проводят построение калибровочной кривой. Для этого готовят стандартные растворы. С помощью мерной пипетки в 10 мл мерную колбу помещают 1,00 мл исходного раствора аспартама с концентрацией 0,02 моль/л, добавляют 2,00 мл биуретового раствора и доводят до отметки дистиллированной водой. Аналогичным образом готовят четыре дополнительных

стандартных раствора, содержащих 2,00, 3,00, 4,00 и 5,00 мл исходного раствора аспартама. Каждый из этих растворов должен содержать 2,00 мл биуретового раствора. Рассчитывают концентрацию аспартама для всех стандартных растворов. Холостой стандартный раствор готовят без добавления аспартама. Все приготовленные растворы оставляют в покое на 15 минут. Для каждого раствора с помощью кюветы записывают электронный спектр поглощения на спектрофотометре. Рекомендуется перед измерением ополаскивать кювету анализируемым раствором. Работу на спектрофотометре ведут согласно инструкции по работе с прибором в присутствии преподавателя. Для каждого образца определяют длину волны и записывают значение оптической плотности при максимумах поглощения. Строят график зависимости оптической плотности от концентрации аспартама (калибровочная кривая).

В кювету помещают анализируемый образец, записывают его электронный спектр поглощения и измеряют оптическую плотность при длине волны, выбранной для построения калибровочного графика. С помощью этого графика определяют концентрацию аспартама в анализируемом растворе и исходном образце.

Контрольные вопросы

1. Назовите назначение искусственных подсластителей.
2. Приведите примеры искусственных подсластителей.
3. Напишите химическую формулу аспартама.
4. Напишите химическую формулу комплекса аспартама с ионом меди Cu^{2+} .

12. Гексаметиленetetрамин

Лабораторная работа 12.1. Получение гексаметиленetetрамина

Цель работы

Изучить синтез и свойства гексаметиленetetрамина.

Теоретическое введение

Гексаметиленetetрамин (уротропин, рис. 12.1) – это гетероциклическое органическое соединение $(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$.

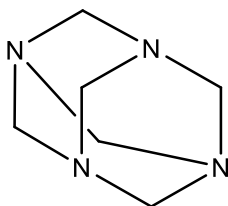


Рис.12.1. Строение гексаметиленetetрамина

В настоящее время гексаметиленetetрамин используется в качестве лекарственного средства - оказывает антисептический эффект.

Гексаметиленetetрамин применяется в качестве консерванта (E239) в пищевой промышленности. Однако в России консервант E239 запрещен для использования.

Гексаметиленetetрамин используется в синтезе полимерных материалов (фенолформальдегидных смол, белковых и других пластмасс), при производстве сухого горючего.

Гексаметиленetetрамин образуется при взаимодействии аммиака (4 моля) с формальдегидом (6 молей) (схема 12.1). Данная реакция была впервые открыта русским химиком А. М. Бутлеровым в 1859 г.

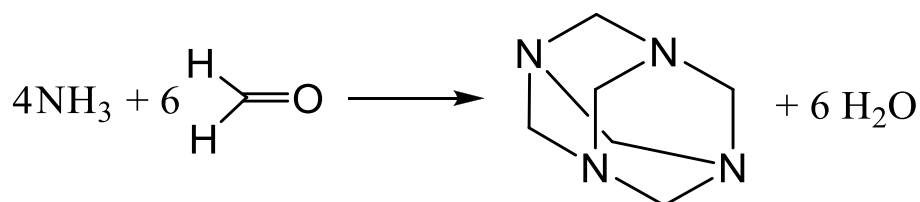


Схема 12.1. Синтез гексаметиленetetрамина

Гексаметиленetetрамин представляет собой белые кристаллы сладкого вкуса.

Оборудование и реактивы

Металлический бюкс, химический стакан 50 мл, мерная пипетка 10 мл, 25%-й водный раствор аммиака,

Ход работы

1. Синтез гексаметилентетрамина

В химический стакан объемом 50 мл с помощью мерной пипетки последовательно добавляют 5 мл 25%-го водного раствора аммиака, 1 каплю фенолфталеина. К полученному раствору при постоянном перемешивании добавляют по каплям 7 мл 40%-го водного раствора формальдегида. Температура реакционной массы в ходе данной стадии не должна превышать 20 °С. Полученную реакционную смесь тщательно перемешивают стеклянной палочкой в течение 1 – 2 мин при комнатной температуре. Если раствор в стакане не обесцветился, то к реакционной массе добавляют 1 мл формалина и вновь перемешивают стеклянной палочкой. Данную операцию повторяют до полного обесцвечивания реакционной массы. В данном синтезе фенолфталеин выступает только в качестве индикатора рН. Исчезновение окраски указывает на завершение реакции формальдегида с аммиаком.

Содержимое стакана упаривают в вакууме до образования густой массы. К реакционной массе при постоянном перемешивании стеклянной палочкой добавляют 5 мл этилового спирта. Выпавшие кристаллы гексаметилентетрамина отфильтровывают на воронке Бюхнера.

Чистый гексаметилентетрамин получают перекристаллизацией из этилового спирта (96% об.). Гексаметилентетрамин высушивают при комнатной температуре, взвешивают и определяют выход готового продукта.

2. Изучение некоторых свойств уротропина

Поместите в пробирку немного твёрдого гексагидрата хлорида кобальта ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) и примерно столько же твёрдого гексаметилентетрамина. Тщательно перемешайте содержимое пробирки с помощью сухой стеклянной палочки. Объясните появление голубой окраски твёрдой смеси в пробирке. Напишите уравнение реакции.

Контрольные вопросы

1. Назовите области применения гексаметилентетрамина.
2. К какому классу веществ относится гексаметилентетрамин?
3. Напишите химическую реакцию получения гексаметилентетрамина.
4. С какой целью добавляют фенолфталеин в реакционную массу?

13. Амид аллофановой кислоты

Лабораторная работа 13.1. Получение амида аллофановой кислоты

Цель работы

Ознакомление с условиями синтеза амида аллофановой кислоты и его свойствами.

Теоретическое введение

Амид аллофановой кислоты (биурет, карбамилмочевина, рис. 13.1) – белое твёрдое вещество, растворимое в горячей воде. Амид аллофановой кислоты впервые был получен химиком Густавом Генрихом Видеманном.

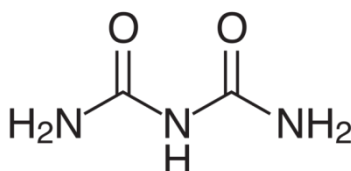


Рис. 13.1. Строение амида аллофановой кислоты

Жвачные животные в отличие от человека и других нежвачных животных не нуждаются в поступлении всех белков с пищей, поскольку они обладают уникальной способностью синтезировать необходимый им белок из других азотсодержащих веществ не белковой природы. К этим веществам относятся мочевина, амид аллофановой кислоты, органические и неорганические аммонийные соли. Указанные вещества используют в качестве добавки в составе кормов для жвачных животных.

В аналитической химии для визуальной оценки окраски жидкостей при проведении качественного теста на наличие белков в образце (биуретовая реакция) в качестве эталона сравнения используется комплекс амида аллофановой кислоты с ионом меди $2+$. Он образуется в щелочной среде при взаимодействии амида аллофановой кислоты с медным купоросом. Данный комплекс окрашен в фиолетово-синий цвет.

Оборудование и реактивы: круглодонная колба емкостью 50 мл, вакуум-насос, масляная баня, вакуум-эксикатор, мочевина.

Ход работы

Все эксперименты в данной работе проводятся в вытяжном шкафу. В круглодонную колбу емкостью 50 мл, соединенную с вакуумной системой, загружают 5 г мочевины и выдерживают ее при атмосферном давлении на масляной бане при 145°C до полного расплавления. Затем в колбе с мочевиной устанавливают вакуум (не более 50 мм остаточного давления) и нагревают до температуры $160 - 169^{\circ}\text{C}$ и выдерживают в течение 30 - 45 минут, далее поднимают температуру до $169 - 174^{\circ}\text{C}$ и выдерживают при этой температуре еще 40 - 50 минут. По окончании выдержки снимают вакуум, дают остыть. К реакционной смеси добавляют 50 мл горячей воды и нагревают до кипения и фильтруют. Фильтрат выдерживают при $0...+5^{\circ}\text{C}$ в течение ночи. За это время выпадают белые кристаллы амида аллофановой кислоты. Их отфильтровывают и высушивают в вакуум-эксикаторе над хлористым кальцием. Вещество имеет т. пл. 190°C . Определяют массу и выход продукта.

Контрольные вопросы

1. Какие животные способны использовать азот содержащие веществ небелковой природы для синтеза белка?
2. Какие вещества используют в качестве источника небелкового азота?
3. Напишите химическую формулу амида аллофановой кислоты.
4. Назовите области применения амида аллофановой кислоты.
5. Какие вещества используют в синтезе амида аллофановой кислоты?

14. Йодоформ

Лабораторная работа 14.1. Синтез йодоформа

Цель работы

Ознакомление с методикой синтеза йодоформа.

Теоретическое введение

Йодоформ (трииодметан, рис. 14.1) – органическое соединение с химической формулой CHI_3 .

В природе йодоформ содержится в некоторых видах грибов.

Йодоформ обладает антисептическими свойствами. Благодаря данным свойствам он использовался в начале 20-ого века в качестве дезинфицирующего средства.

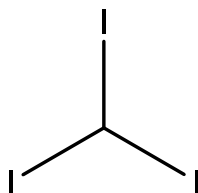


Рис. 14.1. Строение йодоформа

Йодоформ - твердое кристаллическое вещество желтого цвета со специфическим запахом и т. пл. $119\text{ }^{\circ}\text{C}$. Растворяется в этиловом спирте, диэтиловом эфире, хлороформе. В воде практически не растворим. Под действием света быстро гидролизуеться в растворе щелочи, поэтому следует избегать сильнощелочной среды в процессе синтеза.

В лабораторном синтезе (небольшие количества) йодоформ получают из спирта или ацетона при действии иода и едких щелочей или карбонатов щелочных металлов.

Оборудование и реактивы

Стакан вместимостью 150 мл, капельная воронка, ацетон, йод, иодид калия, 10%-й раствор гидроксида натрия.

Ход работы

В стакан помещают 2 г иодида калия, приливают 4 мл дистиллированной воды и после растворения соли добавляют 1 г иода. К полученному раствору приливают 10 мл воды. Затем в реакционную массу вводят 2,5 мл ацетона и при перемешивании по каплям добавляют из капельной воронки 10%-й раствор гидроксида натрия до исчезновения красноватой окраски раствора. Через

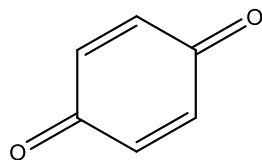
30 минут выпадает осадок йодоформа в виде желтого кристаллического порошка. Осадок отфильтровывают, промывают небольшим количеством воды и высушивают на воздухе.

Контрольные вопросы

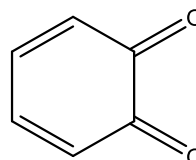
1. Где в природе встречается йодоформ?
2. Назовите области применения йодоформа.
3. Какие вещества используют в синтезе йодоформа?

15. Хиноны

Хиноны - это полностью сопряженные циклогексадиеноны. Примерами простейших хинонов являются – 1,4-бензохинон и 1,2-бензохинон (рис 15.1).



1,4-бензохинон



1,2-бензохинон

Рис. 15.1. Строение бензохинонов

Замещенные хиноны широко распространены в природе (рис. 15.2) и являются фрагментами:

- *природных красителей*, например, красного пигмента морского ежа - эхинохрома А;

- *жирорастворимого витамина К*. Этот витамин необходим для синтеза белков, обеспечивающих свёртывание крови. Витамин К содержится в зелёных листовых овощах, пшенице и других злаках, фруктах, мясе, коровьем молоке и молочных продуктах, яйцах;

- *коэнзима Q (CoQ)* - группы бензохинонов, содержащих хиноидную группу (отсюда обозначение Q) и несколько изопрениловых групп. CoQ присутствует во всех клетках и мембранах и выполняет ряд важных функций, имеющих большое значение для клеточного метаболизма. Он выступает в качестве переносчика электронов в митохондриальной дыхательной цепи, является жирорастворимым антиоксидантом, замедляет окисление жиров, участвует в регулировании физико-химических свойств мембран, катализирует окисление сульфида (у дрожжей), способствует образованию дисульфидных связей (у бактерий);

- *пластохинона*, участвующего в процессе переноса электронов световой фазы фотосинтеза. Во время этой фазы пластохинон восстанавливается с образованием пластохинола.

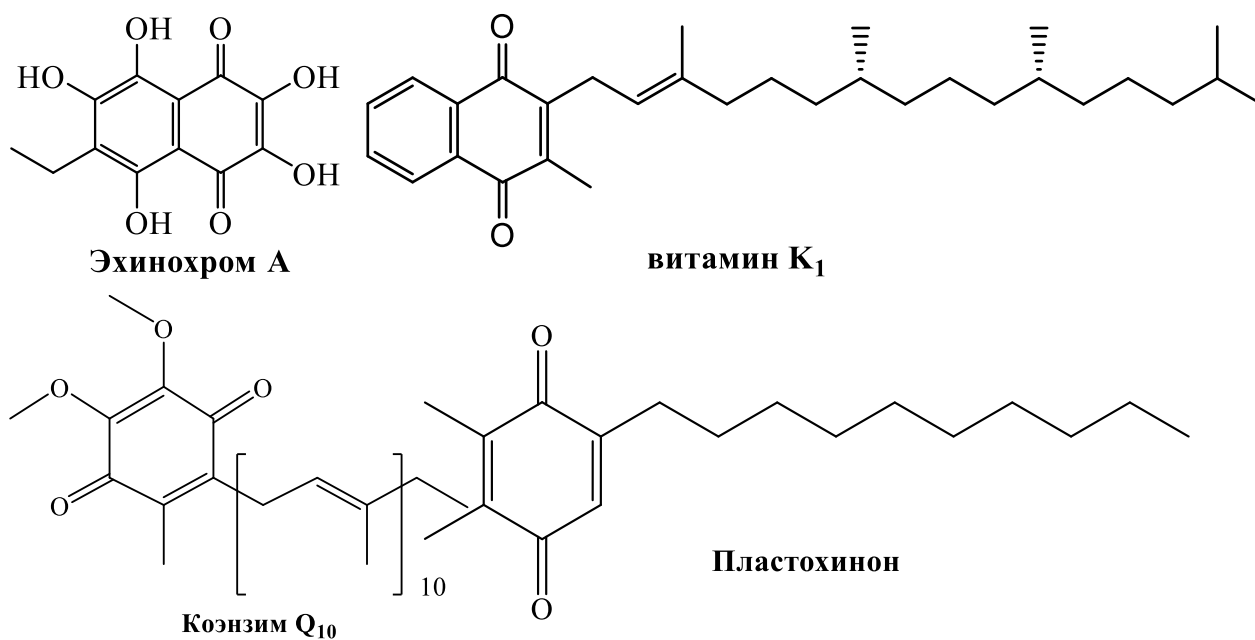


Рис. 15.2. Структура производных хинона

Хиноны используются для получения флуоресцентных зондов, которые применяются для визуализации различных биологических процессов в микроорганизмах, в качестве катализаторов в производстве пероксида водорода и других важных химических продуктов

Лабораторная работа 15.1. Получение хинона из гидрохинона

Цель работы

Изучение методов синтеза п-бензохинона и его свойств.

Теоретическое введение

Основным способом получения о- и п-бензохинонов является окисление о- и п-дигидроксибензолов (схема 15.1). Для их окисления используются бихроматы калия или натрия.

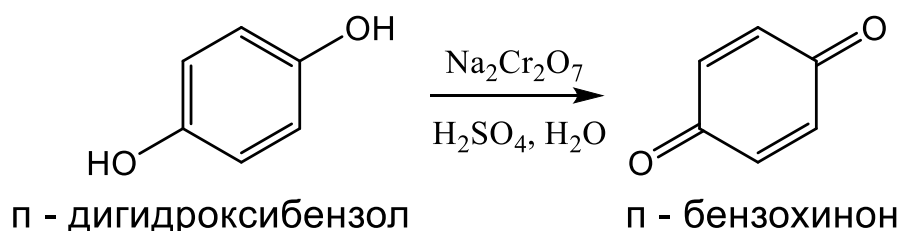


Схема 15.1. Получение п-бензохинона

Оборудование и реактивы

Однгорлая плоскодонная колба, пипетка на 10 мл, химический стакан, мерный цилиндр, колба Бунзена, воронка Бюхнера, термометр, аналитические весы, водяная баня, ледяная баня, установка для прямой перегонки, спиртовка, гидрохинон, дихромат калия (кристаллический), сульфит натрия, серная кислота, бензол, хлористый кальций, гидроксид натрия, йодид калия.

Ход работы

В однгорлую плоскодонную колбу вносят 1 г п-дигидроксибензола и 20 мл дистиллированной воды. Затем в реакционную смесь медленно при постоянном перемешивании стеклянной палочкой добавляют 1 г концентрированной серной кислоты, не допуская нагрева выше 25 °С. К полученному раствору приливают по каплям водный раствор бихромата натрия (5 г в 13 мл воды) до тех пор, пока цвет осадка не изменится от темно-зеленого до желтовато-зеленого. Эту стадию проводят при постоянном перемешивании и температуре не выше 30 °С. После этого колбу с реакционной смесью помещают в ледяную баню и охлаждают до 10 °С, выпавшие кристаллы отфильтровывают на воронке Бюхнера и промывают их небольшим количеством дистиллированной холодной воды. Фильтрат содержит в себе хинон, что приводит к потерям целевого продукта. С целью избежать этого, хинон экстрагируют из фильтрата с помощью бензола. Для этого в делительной воронке к фильтрату добавляют 4 мл бензола, тщательно встряхивают и оставляют в покое до полного разделения слоев. Верхний слой, содержащий бензол и хинон, переносят в другой химический стакан. Указанную процедуру повторяют три раза. Бензольные экстракты и осадок с фильтра переносят в коническую колбу и нагревают при перемешивании на водяной бане до полного растворения. Полученный раствор всегда содержит воду, которую необходимо удалить (перегонка хинона с водяным паром всегда сопровождается его заметным разложением). Для этого к бензольному раствору хинона при перемешивании добавляют небольшое количество безводного хлористого кальция, оставляют в покое на 10 мин и фильтруют.

Затем с помощью установки для прямой перегонки из фильтрата медленно (во избежание уноса хинона с парами) отгоняют бензол до тех пор, пока не начнется перегонка хинона (наблюдаются желтые пары). При охлаждении остатка в перегонной колбе хинон выпадает в осадок.

Выход 1,6 – 1,8 г (80 – 90% от теоретического).

Контрольные вопросы

1. Какие вещества называют хинонами?
2. Назовите главное отличие хинонов от других карбонильных соединений.
3. Назовите группы природных веществ, которые содержат в своем составе хиноны.
4. Назовите основные свойства и области применения для каждого класса природных хинонов.
5. Назовите основные источники природных хинонов.
6. Назовите области применения синтетических природных хинонов.
7. Объясните, чем отличаются хинон от гидрохинона (запишите формулы).
8. Методы получения п-бензохинона.
9. Объясните, что называют перегонкой с паром.

Библиографический список

1. Базарнова Ю.Г. Биологически активные вещества дикорастущих растений / Ю. Г. Базарнова. – СПб.: Профессия, 2016.- 240 с.
2. Химия пищевых продуктов / Ш. Дамодаран [и др.]. - СПб.: ИД "Профессия", 2012. - 1040 с. (перевод с английского).
3. Пищевая химия / А.П. Нечаев [и др.]; под ред. А.П. Нечаева. - 2-е изд., перераб. и испр. - СПб.: ГИОРД, 2015. - 672 с.
4. Горбатова К. К. Биохимия молока и молочных продуктов / К. К. Горбатова, П. И. Гунькова. – 4-е изд., перераб. и доп. – СПб.: ГИОРД, 2010. – 336 с.
5. Спиричев, В. Б. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами / В. Б. Спиричев. - Новосибирск: Сиб. университет. изд-во, 2005. - 547 с
6. Практикум по химии углеводов / Ю.А. Жданов [и др]; под ред. Ю. А. Жданова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1973. – 204 с.
7. Беляева, О. Б. Фотобиосинтез хлорофилла / Беляева, О. Б. - М.: изд-во Моск. ун-та, 1989. - 103 с. : ил. - Библиогр. : с 94-102.
8. Голубчиков О.А. Органический практикум: учеб. пособие / О.А. Голубчиков; Иван. гос. хим.-технол. ун-т. – Иваново, 2014. – 139 с.
9. Рево А.Я. Малый практикум по органической химии: учеб. пособие для студ. вузов / А.Я. Рево, В.В. Зеленкова. - М.: Высш. шк., 1980. – 175 с.
10. Гитис С.С. Практикум по органической химии. Органический синтез / С.С. Гитис, А.И. Глаз, А.В. Иванов. – М.: Высш. шк., 1991. – 303 с.

Учебное издание

САЛЬНИКОВ Денис Сергеевич

КУДРИК Евгений Валентинович

МАКАРОВ Сергей Васильевич

Химия биологически активных веществ

Учебное пособие

Редактор В.Л. Родичева

Подписано в печать 4.09.2019. Формат 60x84 ¹/16. Бумага писчая.

Усл. печ. л. 5,35. Тираж 50 экз. Заказ

ФГБОУ ВО «Ивановский государственный
химико-технологический университет»

Отпечатано на полиграфическом оборудовании редакционно-издательского
центра ФГБОУ ВО «ИГХТУ»

15300, г. Иваново, Шереметевский пр., 7